



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ÉRICA DE ANDRADE VIEIRA

POTENCIAL NUTRICIONAL E ANTIOXIDANTE DE GOJI BERRY (*Lycium barbarum* L.)

JOÃO PESSOA - PB

2016

ÉRICA DE ANDRADE VIEIRA

POTENCIAL NUTRICIONAL E ANTIOXIDANTE DE GOJI BERRY (*Lycium barbarum* L.)

Trabalho de Conclusão de Curso desenvolvido e apresentado no âmbito do Curso de Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba como requisito para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro

JOÃO PESSOA - PB

2016

V657p Vieira, Érica de Andrade.

Potencial nutricional e antioxidante de Goji Berry (*Lycium barbarum* L.). [recurso eletrônico] / Érica de Andrade Vieira. – 2016.

75 p. + CD.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Orientador: Dra. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação - Tecnologia de Alimentos) – CTDR/UFPB.

1. *Lycium barbarum* L. 2. Compostos fenólicos. 3. Simplex lattice design. 4. Goji Berry - Nutrição. I. Cordeiro, Angela Maria Tribuzy de Magalhães. II. Título.

CDU: 634.7:612.39


ÉRICA DE ANDRADE VIEIRA

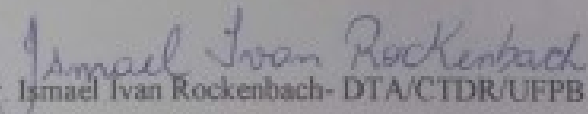
POTENCIAL NUTRICIONAL E ANTIOXIDANTE DE GOJI BERRY (*Lycium barbarum* L.)


Trabalho de Conclusão de Curso desenvolvido e apresentado no âmbito do Curso de Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba como requisito para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Aprovado em 13/06/16

BANCA EXAMINADORA

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro  
Orientadora – DTA/CTDR/UFPB

  
Prof.<sup>o</sup> Dr. Ismael Ivan Rockenbach- DTA/CTDR/UFPB  
Examinador – DTA/CTDR/UFPB

  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Nataly Albuquerque dos Santos – DTA/CTDR/UFPB  
Examinadora – DTA/CTDR/UFPB

## AGRADECIMENTOS

A Deus, e ao Senhor Jesus Cristo os quais sempre se fizeram presentes em minha vida, pela misericórdia, pelo cuidado e por todo amor!

A minha mãe, aos meus irmãos, por todo apoio e compreensão por todos esses anos que passei longe de casa, porém sei que sempre terei um lugar reservado.

Ao meu noivo Alex Campelo por todo amor, carinho, paciência, compreensão, e por todo apoio ao longo desses anos.

À Lúcia e sua família pelo carinho e cuidado.

A minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Angela Tribuzy, pela orientação e confiança e ter me ajudado a tornar possível a realização de mais uma etapa em minha vida. Pelo exemplo de força, dedicação e fé.

Ao Prof.<sup>o</sup> Gouveia e à Prof.<sup>a</sup> Nataly pela oportunidade de fazer parte de um projeto de pesquisa a qual foi muito importante.

Aos professores do CTDR, especialmente os professores Alice, Haíssa, Vanessa, Ismael e João Paulo, pelas contribuições e dedicação.

Ao pessoal do LACOM, aos doutorandos Vânia, Bruno, especialmente a Isabelle e Maristela pelo apoio, por toda ajuda e todas as contribuições não apenas as profissionais, pela ajuda com as análises, mas por todo respeito e carinho.

Ao Jayme pela sua solidariedade, apoio e bom humor.

A Tayssa, Ana Rennaly, Rosália, Ismael e Wemerson, por todos os momentos que passamos juntos, por todas as críticas e sugestões, e aos demais que encontrei ao longo do caminho.

Aos técnicos do CT e CTDR, em especial à Claudinha, você é uma pessoa especial.

Às meninas da biblioteca, em especial à Maria José, por todos os momentos em que me recebeu bem e sempre demonstrou carinho e paixão pelo que faz.

Obrigada.

*“Pelo que também Deus o exaltou sobremaneira e  
lhe deu o nome que está acima de todo nome,  
para que o nome de Jesus se dobre todo joelho, nos céus,  
na terra e debaixo da terra, e toda língua confesse que  
Jesus Cristo é o Senhor, para toda glória de Deus Pai.”*

Filipenses 2.9-11

## RESUMO

Este estudo avaliou as características físicas e físico-químicas de frutos de Goji berry desidratado (*Lycium barbarum* L.), que mostrou ser uma fonte de proteínas, vitamina C, e minerais, além de possuir baixo teor lipídico, apresentando importantes propriedades nutricionais e funcionais como os compostos fenólicos. Investigou-se a eficiência de extração de compostos fenólicos utilizando a ferramenta estatística de planejamento de mistura, simplex-lattice design. Os solventes usados foram acetona, etanol e água e as respostas analisadas foram teor de fenólicos totais (CFT), atividade antioxidante pela desativação do radical livre DPPH e poder redutor do ferro (FRAP). Foi possível verificar a eficiência de extração dos compostos fenólicos de Goji berry pelos solventes, quando isolados, em mistura binária ou ternárias. A polaridade dos solventes e suas misturas influenciaram fortemente a extração, onde misturas de solventes etanol-água foram mais eficientes para extrair os compostos antioxidantes fenólicos da amostra estudada. Foi observado que a adição de água aos solventes orgânicos melhorou a eficiência de extração. O perfil fenólico mostrou que os ácidos 2,5-dihidroxibenzoico, 3,4-dihidroxibenzoico, sinápico, caféico e vanílico, além do flavonoide rutina são os compostos mais abundantes presentes no extrato de goji berry.

**Palavras-chave:** *Lycium barbarum* L.; compostos fenólicos; DPPH; FRAP; Simplex Lattice Design.

## ABSTRACT

This study evaluated the physical and physicochemical properties of Goji berry dried fruit (*Lycium barbarum* L.), which proved to be a source of protein, vitamin C, and minerals, as well as having low lipid content, with important nutritional and functional properties as phenolic compounds. Investigated the phenolic extraction efficiency by using the statistical tool mixture planning, simplex lattice design. Was the solvents used were acetone, ethanol and water and the responses analyzed were total phenolic content (TPC), antioxidant activity by DPPH free radical scavenging activity Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). It was possible to verify the efficiency of extraction of phenolic compounds of goji berry by solvent when isolated in binary or ternary mixture. The polarity of the solvents, and mixtures thereof strongly influenced the extraction, where mixtures of ethanol-water solvents were more efficient to extract the phenolic antioxidants of the sample. It was observed that the addition of water to organic solvents improved extraction efficiency. The phenolic profile showed that 2,5-dihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic, sinapic, caffeic acid and vanillic beyond the flavonoid rutin are the most abundant compounds in goji berry extract.

**Keywords:** *Lycium barbarum* L.; Phenolic compounds; DPPH; FRAP; Simplex Lattice Design.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Flores (a) e bagas (b) de <i>Lycium barbarum</i> L. ....	18
<b>Figura 2</b> - Principais ácidos orgânicos: (a) ácido cítrico, (b) ácido quínico, (c) ácido oxálico, (d) ácido málico, (e) ácido tartárico, presentes em goji berry. ....	22
<b>Figura 3</b> - Estrutura dos principais carotenoides encontrados em goji berry: (a) $\beta$ -caroteno, (b) zeaxantina, (c) neozantina e (d) criptoxantina. ....	23
<b>Figura 4</b> - Estruturas químicas dos principais compostos fenólicos mais abundantes em goji berry: (a) ácido cafeico, (b) p-cumárico, (c) rutina, (d) escopoletina, (e) Ntrans-feruloil tiramina, (f) tiramina N-cis-feruloil e (g) N-feruloil tiramina. ....	25
<b>Figura 5</b> - Etapas de realização das análises.....	28
<b>Figura 6</b> - Goji berry desidratado. ....	29
<b>Figura 7</b> - Rendimento em extrato seco da amostra nas diferentes proporções dos solventes água, etanol e acetona. ....	47
<b>Figura 8</b> - Curva de contorno do conteúdo de fenólicos totais (CFT) em função dos solventes. ....	53
<b>Figura 9</b> - Curva de contorno da atividade antioxidante (DPPH) em função dos solventes. ...	55
<b>Figura 10</b> - Curva de contorno da atividade antioxidante do poder redutor (FRAP) em função dos solventes.....	57
<b>Figura 11</b> - Cromatogramas do (A) ensaio 14, (B) ensaio 13 e (C) ensaio em extrato de goji berry ( <i>Lycium barbarum</i> L.). ....	61

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição nutricional de goji berry seco em 100 g. ....	19
<b>Tabela 2</b> - Composição dos aminoácidos presentes em 100 g de goji berry desidratado.....	20
<b>Tabela 3</b> - Delineamento experimental modelo <i>simplex lattice design</i> . ....	36
<b>Tabela 4</b> - Resultados da caracterização física do goji berry.....	40
<b>Tabela 5</b> - Valores das coordenadas de cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $h^\circ$ e $C^*$ ) de frutos de goji berry ( <i>Lycium barbarum</i> L.). ....	42
<b>Tabela 6</b> - Parâmetros físico-químicos de <i>Lycium barbarum</i> L. (goji berry) em 100 g.....	43
<b>Tabela 7</b> - Composição mineral presente em goji berry. ....	45
<b>Tabela 8</b> - Variáveis experimentais e resultados utilizados no modelo de mistura Simplex Lattice. ....	49
<b>Tabela 9</b> - ANOVA – Regressão de modelo para otimização de extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante modelo Simplex. ....	50
<b>Tabela 10</b> - Coeficiente dos fatores de misturas para otimização da extração do conteúdo de fenólicos totais. ....	51
<b>Tabela 11</b> - Coeficiente dos fatores de misturas para otimização da extração considerando a atividade antioxidante (DPPH). ....	54
<b>Tabela 12</b> - Coeficiente dos fatores de misturas para otimização da extração considerando o poder redutor (FRAP). ....	56
<b>Tabela 13</b> - Compostos fenólicos em extratos de goji berry ( <i>Lycium barbarum</i> L.). ....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>AOAC</b>	Association of Official Analytical Chemists
<b>AAT</b>	Atividade Antioxidante Total
<b>CFT</b>	Conteúdo de fenólicos totais
<b>DPPH•</b>	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
<b>EAG</b>	Equivalente de ácido gálico
<b>FRAP</b>	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
<b>USDA</b>	United States Department of Agriculture
<b>TPTZ</b>	2, 4, 6 – Tri (2-piridil) – 1,3,5 - triazina
<b>TROLOX</b>	ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico
<b>ICP-MS</b>	Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado
<b>FAAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica modo chama

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	13
1.1 OBJETIVO GERAL	15
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	16
2.1 <i>LYCIUM BARBARUM</i> L.	16
2.2 ASPECTOS BOTÂNICOS	18
2.3 COMPONENTES FUNCIONAIS DO GOJI BERRY	19
2.3.1 Compostos bioativos	21
2.3.1.1 Carotenoides	22
2.3.1.2 Fenólicos	24
2.4 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS	25
2.5 CONTEÚDO DE FENÓLICOS TOTAIS	26
2.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	27
2.6.1 DPPH	27
2.6.2 FRAP	27
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	28
3.1 REAGENTES	28
3.2 OBTENÇÃO DO FRUTO	29
3.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA	29
3.3.1 Massa dos frutos	30
3.3.2 Dimensão dos frutos	30
3.3.3 Sementes	30
3.3.4 Cor	30
3.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	30
3.4.1 Umidade	30
3.4.2 pH	31
3.4.3 Proteínas	31
3.4.4 Lipídios	31
3.4.5 Sólidos solúveis totais (°Brix)	32
3.4.6 Cinzas	32
3.4.7 Açúcares totais	33
3.4.8 Carboidratos totais	33
3.4.9 Fibras totais	33
3.4.10 Ácido ascórbico	34
3.4.11 Minerais	34
3.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS	35
3.5.1 Delineamento experimental	35
3.6 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FENÓLICOS TOTAIS	37
3.7 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	37
3.7.1 Método de sequestro de radicais livres DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)	37
3.7.2 Método de redução do ferro – FRAP	38

3.8 ANÁLISE DO PERFIL DOS COMPOSTOS FENÓLICOS .....	38
3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	39
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA .....	40
4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA .....	43
4.3 RENDIMENTO DOS EXTRATOS .....	47
4.4 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	49
4.4.1 Efeito dos solventes na extração dos compostos fenólicos totais (CFT).....	51
4.4.2 Efeito dos solventes na atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH• .....	53
4.4.3 Efeito dos solventes na atividade antioxidante do poder redutor (FRAP).....	55
4.4.4 Quantificação dos compostos fenólicos individuais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) .....	58
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>64</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>65</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas houve o aumento do consumo de produtos naturais, ricos em nutrientes e compostos bioativos em virtude dos efeitos positivos para a saúde humana. Os vegetais, inclusive as frutas, são considerados fontes ricas de alguns micronutrientes essenciais e fibras dietéticas, e mais recentemente foram reconhecidos como importantes fontes de uma grande variedade de fitoquímicos que individualmente ou em combinação podem beneficiar a saúde (HERVERT-HERNÁNDEZ et al., 2011).

Devido às propriedades benéficas que alguns alimentos possuem e sua associação à prevenção de doenças, surge uma nova categoria de alimentos, os “superalimentos”, um termo comumente utilizado para se referir a um alimento de um alto valor nutritivo e elevado potencial. Superalimentos é uma classe especial, onde determinados alimentos participam por seu elevado teor de nutrientes. Para um alimento ser incluído na lista dos superalimentos ele precisa atender aos rígidos padrões sendo rico em nutrientes, como vitaminas, minerais, fibras, proteínas, ácidos essenciais e fonte de antioxidantes, promovendo assim a saúde e vitalidade do corpo (CONNELL; MARANAN, 2014).

O fruto de Goji berry (*Lycium barbarum* L.) foi incluso na nova categoria de superalimentos, conhecido como "superfruta", pois contém grandes quantidades de antioxidantes, carotenoides, vitamina A e zeaxantina, sendo também rico em vitaminas B e C e polissacarídeos (IONICA; NOUR; TRANDAFIR, 2012). O Goji Berry pertence à família das Solanáceas, muito conhecido no Oriente e amplamente distribuído desde o sudeste da Europa até a China, desempenha um papel importante na tradicional medicina chinesa, principalmente relacionado com a capacidade de melhorar o sistema imunológico, possuir atividades biológicas, tais como a prevenção do câncer e degeneração macular; efeitos favoráveis, como a redução de açúcar no sangue e lipídios, antienvelhecimento e aumento da fertilidade masculina, redução de doenças cardiovasculares e diabetes (CARNÉS et al., 2013; GUOLIANG et al., 2011; WANG et al., 2010; LUO et al., 2009; PRASAD et al., 2013).

Devido aos benefícios à saúde humana, o consumo dos frutos silvestres de goji berry tem despertado interesse (SEERAM, 2008).

Os antioxidantes são capazes de realizar inúmeras funções, incluindo a atuação como sequestrantes de radicais livres, decompositores de peróxidos e sinérgicos (PETKOVSEK et al., 2012). Para o corpo humano, a absorção desses antioxidantes é necessária para contrabalancear os efeitos prejudiciais dos radicais livres a partir do meio ambiente e dos processos metabólicos celulares (ZHANG et al., 2011).

Muitas pesquisas são feitas para investigar o potencial antioxidante de frutas, hortaliças, ervas, sementes, resíduos agroindustriais, e várias procuram uma metodologia eficiente na extração destes componentes, observando a interação dos componentes alimentares com os solventes empregados.

Por estes motivos, o objetivo deste trabalho foi investigar as características nutricionais do fruto de goji berry, *Lycium barbarum* L., o conteúdo de fenólicos totais e a atividade antioxidante dos extratos, otimizando a extração destes compostos através de diferentes solventes.

## 1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial nutricional e antioxidante dos frutos desidratados de Goji berry (*Lycium barbarum* L.).

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as características físicas e a composição centesimal dos frutos desidratados de Goji berry;
- Determinar o teor de fibras brutas, ácido ascórbico e pH;
- Determinar os minerais presentes nos frutos desidratados de Goji berry por Espectrometria de Absorção Atômica modo chama (FAAS) e por Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS);
- Avaliar a eficiência de extração dos compostos fenólicos dos frutos desidratados de Goji berry através de um delimitado experimental de solventes, utilizando técnica estatística multivariada *simplex lattice design*;
- Avaliar o conteúdo de fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (DPPH e FRAP) por métodos espectofotométricos;
- Identificar e quantificar os compostos fenólicos presentes nos extratos antioxidantes por CLAE.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *LYCIUM BARBARUM* L.

O *Lycium barbarum* L. também conhecido como wolfberries, wolfberry, lycii fructus, gouqi, goji berry ou popularmente como goji, pertence à família das Solanaceae (ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012). É amplamente cultivado na China, Tibet, Coréia, Japão e outras partes da Ásia, onde se apresenta como uma promissora fonte de vitaminas (especialmente vitamina C), aminoácidos, oligo-elementos, carotenoides, ácidos fenólicos e atividade antioxidante (JIN et al., 2013).

Os países asiáticos, principalmente a China, utilizam o goji a mais de 2300 anos na medicina alternativa, enquanto em outros países é utilizado como planta de decoração devido a sua exuberância (ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012; BALDWIN et al., 2012).

Existem cerca de 90 espécies de *Lycium* espalhadas pelo mundo (SEEL; MURRIEL, 2009), porém, cerca de 90% de todo fruto comercializado é o *Lycium barbarum*, proveniente da China, seguido do *Lycium chinense* (ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012), sendo estes os mais conhecidos (IONICA; NOUR; TRANDAFIR, 2012). Habitualmente os frutos maduros *in natura* ou desidratados têm sido utilizados como tradicional medicamento e alimento funcional (BRYAN et al, 2008), embora, extratos concentrados e infusões das bagas de *Lycium barbarum* são tradicionalmente preparados e comercializados como ingredientes em refrigerantes e bebidas alcoólicas, atribuídos pelos seus efeitos benéficos para controlar o envelhecimento, funções do fígado, rins e visão (SHEN; DU, 2012). É possível também encontrar na forma de sucos concentrados, molhos e chás (AMAGASE; FARNSWORTH, 2011; LE; CHIU; NG, 2007).

Nos últimos anos, em função dos benefícios proporcionados pelos compostos bioativos e outros componentes do fruto do *Lycium barbarum* L., pesquisas estão sendo conduzidas para confirmar e demonstrar os efeitos de seus componentes químicos e propriedades farmacológicas (POTTERAT, 2010). Uma gama de componentes químicos foi identificada, tais como hidratos de carbono, carotenoides, polissacarídeos, ácidos fenólicos (flavonoides, quinonas e cumarinas), cerebrosídeos, aminoácidos (betaína),  $\beta$ -sitosterol, oligo-elementos, vitaminas e outros componentes (AMAGASE; FARNSWORTH, 2011).

Além disto, estudos científicos têm demonstrado que tais propriedades químicas como compostos fenólicos dos extratos de *L. barbarum* têm sido identificados como responsáveis pela atividade biológica e atividade antioxidante (BRYAN et al., 2008), com inibição de

radicais livres (GAN; ZHANG; YANG, 2004), antitumoral (HA et al., 2005), anti-diabetes (INBARAJ et al., 2008), neuroproteção de acidente vascular, anti-inflamatória, anti-osteoporose, e antifadiga (AMAGASE; SUN; BOREK, 2009).

Os efeitos antioxidantes desses componentes biológicos em humanos têm também sido extensivamente estudados experimentalmente *in vivo*. Amagase et al. (2009) investigaram os efeitos antioxidantes de polissacarídeos em 50 chineses adultos saudáveis com idades entre 55-72 anos durante 30 dias em estudo clínico aleatório, e os resultados mostraram que o tratamento com os componentes polissacarídeos aumentou significativamente os níveis séricos de superóxido dismutase (SOD) em 8,4%, e glutathione peroxidase, em 9,9%, e obviamente, diminuiu o conteúdo no soro de malondialdeído, em 8,7%. Isto indica que os polissacarídeos do extrato de *L. barbarum* podem ser importantes à saúde em humanos, estimulando fatores endógenos e das membranas que protegem contra danos do radical oxigênio.

A literatura mostra também estudo realizado por Gunduz et al. (2015), que observaram após o uso diário de extrato etanólico de *Lycium barbarum* em ratos, que houve uma diminuição do estresse oxidativo das células e prevenção de danos causados no fígado provocados pela ingestão de grandes quantidades de paracetamol, responsável pela lesão hepática grave tanto em humanos como em animais, como também na redução de hemorragia e congestionamento em torção testicular em ratos nos graus menos severos (DURSUN et al., 2015).

Devido às propriedades do goji berry e seus efeitos positivos à saúde, nos últimos anos houve o aumento do consumo como um medicamento fitoterápico. Porém, são necessários mais estudos sobre seus efeitos adversos e toxicológicos, principalmente na utilização por mulheres grávidas, crianças e idosos, uma vez que seus efeitos colaterais não são totalmente conhecidos (MARTINS; COIMBRA; SCHLICHTING, 2014), pois já houve relatos sobre um possível potencial alergênico em indivíduos que já possuíam algum tipo de alergia a plantas como o pêssego e tomate, e especialmente nos que consumiram as bagas de goji pela primeira vez (CARNÉS et al., 2013).

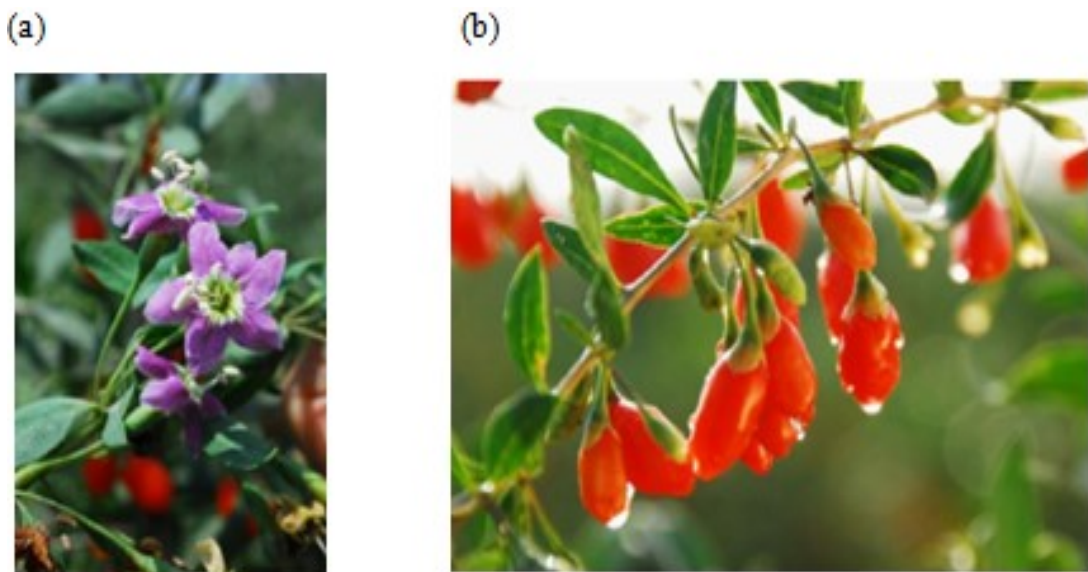
Por estes motivos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2015) informou que há escassez de dados toxicológicos da ingestão de frutos de goji *in natura* ou secos, e orientou que o consumo deve ser moderado, pois ainda não há conhecimento a respeito dos efeitos provocados pela ingestão de altas quantidades.

## 2.2 ASPECTOS BOTÂNICOS

A planta de goji berry cresce de dois a até três metros de altura, seu caule é ascendente ou ereto de coloração marrom a acinzentado pálido com poucos espinhos. As flores são violetas ou roxo (Figura 1a), os frutos maduros apresentam cor característica vermelho brilhante, suas bagas em formato elipsoide medem de 1 a 2 cm de comprimento, 3 a 8 mm de diâmetro, e possuem um alto teor de suco. Cada fruto em média possui de 10 a 20 sementes (Figura 1b) (SEEL; MURRIEL, 2009; ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012).

Os frutos são colhidos geralmente no verão ao outono e grande parte é submetida à secagem a sombra e posteriormente ao sol para que externamente se tornem rígidos, mas internamente mantenham a polpa macia (ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012; ZHU, 1998).

**Figura 1** - Flores (a) e bagas (b) de *Lycium barbarum* L.



Fonte: Amagase; Farnsworth (2011).

## 2.3 COMPONENTES FUNCIONAIS DO GOJI BERRY

Segundo Zhong et al. (2012), o goji berry é uma excelente fonte de macronutrientes e micronutrientes para incorporar na dieta, sendo reconhecido como um dos alimentos funcionais mais populares, principalmente na China (DONG et al., 2012). Estes são carboidratos, proteínas, baixa concentração de gorduras, fibras, além de vitaminas como a vitamina C e minerais como cálcio, ferro, potássio, zinco, além de conter 18 aminoácidos (BENLLOCH et al., 2015).

As Tabela 1 e 2 publicadas pelo USDA (2012) apresentam os teores dos principais nutrientes das bagas.

**Tabela 1** - Composição nutricional de goji berry seco em 100g.

<b>Nutrientes</b>	<b>Quantidade</b>
Valor energético (kcal)	349
Carboidratos por diferença (g)	77,06
Açúcares totais (g)	45,61
Umidade (g)	7,50
Lipídeos (g)	0,39
Proteínas (g)	14,26
Fibra alimentar total (g)	13,0
Cinzas (g)	0,78
Cálcio (mg)	190
Magnésio (mg)	54
Ferro (mg)	6,08
Sódio (mg)	298
Vitamina C, ácido ascórbico total (mg)	48,4
Vitamina A (µg)	268,22
Ácidos graxos saturados (g)	0,00
Gorduras trans (g)	0,00
Colesterol (mg)	0,00

Fonte: USDA (2012).

**Tabela 2** - Composição dos aminoácidos presentes em 100 g de goji berry desidratado.

<b>Aminoácidos</b>	<b>Quantidade (g)</b>
Treonina	0,358
Isoleucina	0,261
Leucina	0,456
Lisina	0,233
Metionina	0,087
Cistina	0,144
Fenilalanina	0,271
Tirosina	0,222
Valina	0,316
Argenina	0,722
Histidina	0,157
Alanina	0,698
Ácido aspártico	1,711
Ácido glutâmico	1,431
Glicina	0,304
Prolina	1,000
Serina	0,498

Fonte: USDA (2012).

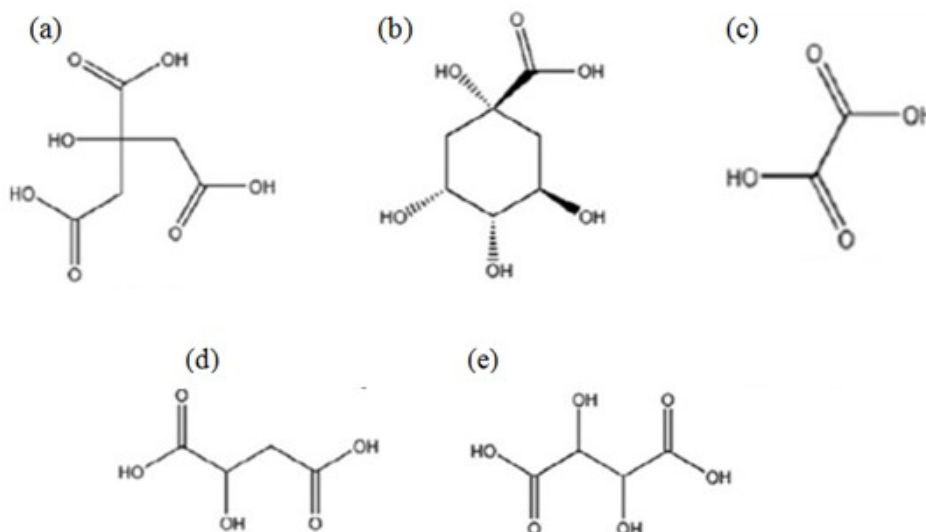
Em pesquisa realizada por Guo et al. (2015) a partir de goji provenientes de diferentes regiões da China, como: Gansu, Qinghai, Xinjiang, Inner Mongólia e Ningxia foi possível identificar pelo menos 16 tipos de aminoácidos presentes nos frutos. Dentre eles o ácido aspártico, ácido glutâmico, serina, treonina, glicina, alanina, prolina, metionina, valina, fenilalanina, leucina, isoleucina, cisteína, tirosina e lisina. Além disso, o estudo mostrou que a quantidade de aminoácidos presentes variou de acordo com a região. Essas diferenças poderiam ser de fatores genéticos, ambientais, solo e clima. Apontou-se a região de Ningxia com as maiores quantidades de amioácidos: ácido glutâmico (396 mg. kg), ácido aspártico (312 mg. kg), prolina (242 mg. kg), alanina (237 mg. kg), serina (196 mg. kg), glicina (164 mg. kg), lisina (147 mg. kg), e tirosina (141 mg. kg).

### 2.3.1 Compostos bioativos

As substâncias bioativas podem ser classificadas como nutracêuticas e tóxicas. Os compostos ativos e derivados que promovem a saúde, previnem doenças, possuem propriedades medicinais, causando impactos benéficos à saúde são chamados de nutracêuticos, por outro lado compostos químicos que ocorrem naturalmente ou induzidos por processos que exercem efeitos adversos à saúde humana são tidos como tóxicos. As frutas, os vegetais, as plantas, os grãos, os produtos marinhos e ervas contêm tanto substâncias nutracêuticas como tóxicas, sendo seu conteúdo variável dependendo necessariamente da fonte promissora (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Donno et al. (2014) identificaram o goji berry como sendo rico em compostos bioativos, encontrando em amostras do fruto cerca de 17 compostos bioativos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), entre eles a prevalência de ácidos orgânicos e compostos polifenólicos (flavonóis, ácidos benzoicos, catequinas, e taninos). A classe mais abundante foi ácidos orgânicos (76,82%), seguida de polifenóis (16,20%), monoterpenos (6,13%), e vitaminas (0,84%). Quatro compostos eram ácidos hidroxicinâmicos (ácido caféico, 110,84 mg.100g, ácido clorogênico, 113,18 mg.100g., ácido cumárico, 111,32 mg.100g. e ácido ferúlico, 125,80 mg.100g.), um flavonoide (hiperosídeo, 116,27 mg.100g.), um ácido hidroxibenzóico (ácido gálico, 15,31 mg.100g.), dois flavonóis (catequina, 118,76 mg.100g. e epicatequina, 229,18 mg.100g.), três monoterpenos (felandreno, 215,96 mg.100g., sabinene, 56,74 mg.100g. e  $\gamma$ -terpineno, 83,48 mg.100g.), cinco ácidos orgânicos (ácido cítrico, 254,09 mg.100g., ácido málico, 601,43 mg.100g., ácido oxálico, 13,41 mg.100g., ácido quínico, 2011,73 mg.100g. e ácido tartárico, 1580,35 mg.100g) (Figura 2), e uma vitamina (vitamina C, 48,94 mg.100g).

**Figura 2** - Principais ácidos orgânicos: (a) ácido cítrico, (b) ácido quínico, (c) ácido oxálico, (d) ácido málico, (e) ácido tartárico, presentes em goji berry.



Fonte: DONNO et al. (2014), com adaptações.

### 2.3.1.1 Carotenoides

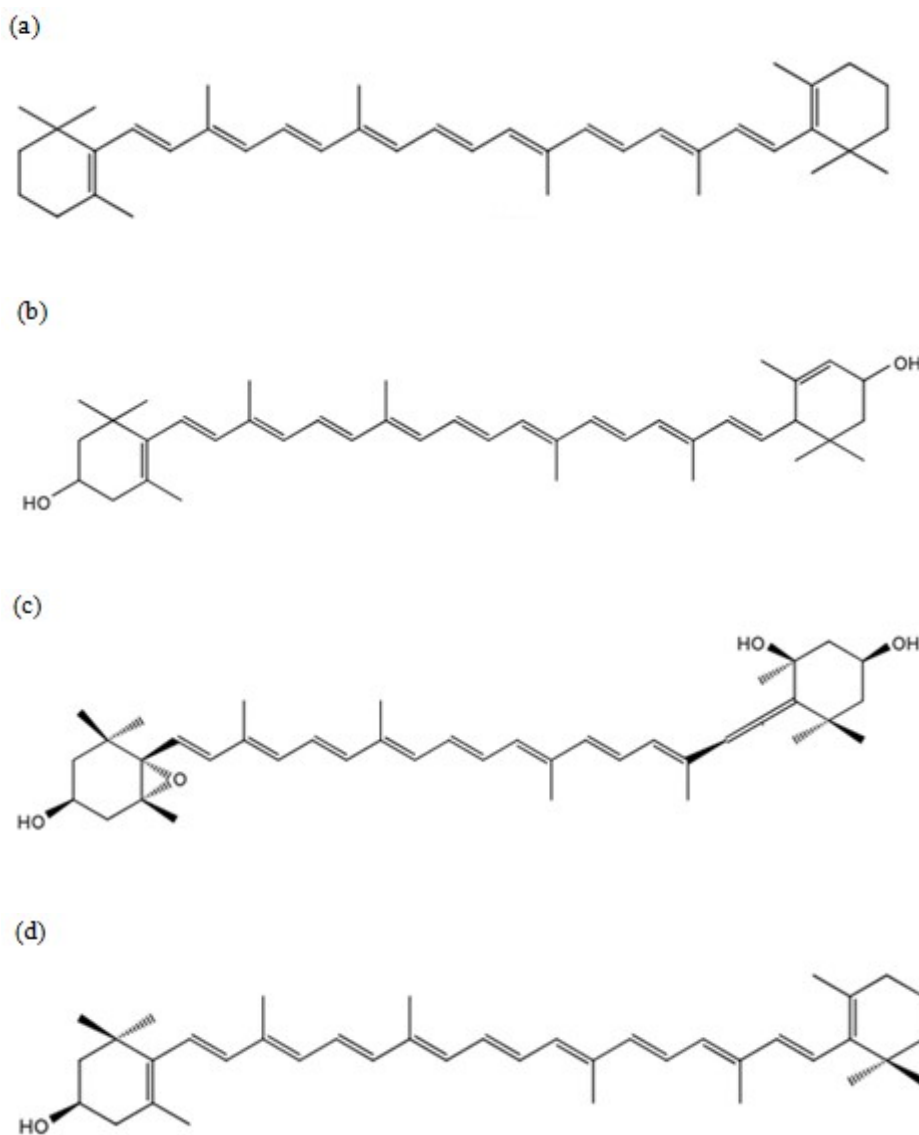
Estudos apontam que goji berry contém um perfil diferenciado e uma excelente fonte de carotenoides (ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012). Os carotenoides são pigmentos naturais encontrados em diversas fontes vegetais como também em animais, e atuam como antioxidantes. Sua estrutura constitui-se de uma cadeia polienoica de 40 carbonos. São sensíveis à luz, ao calor em excesso, a ácidos, ao processamento e armazenamento os tornam mais vulneráveis. O  $\beta$ -caroteno é o mais encontrado em alimentos, sendo a provitamina A o mais potente entre a classe (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Estando presentes em vegetais e frutas, podem beneficiar a saúde dos ossos, devido às suas propriedades antioxidantes, e neutralizar o mecanismo de osteoporose e diminuir doenças, principalmente algumas relacionadas à visão (DAI et al., 2014; JOMOYA; VALKO, 2013).

Stephen et al. (2008) identificaram a presença de 11 carotenoides diferentes, por cromatografia líquida, entre eles foram encontrados  $\beta$ -caroteno, zeaxantina, criptoxantina e neoxantina. Os mais abundantes foram a zeaxantina dipalmitato (1.143,7  $\mu\text{g.g.}$ ), isômeros de criptoxantina monopalmitato (68,5  $\mu\text{g.g.}$ ) e  $\beta$ -caroteno (23,7  $\mu\text{g.g.}$ ). Wang et al. (2010)

encontraram 10 tipos de carotenoides incluindo formas de zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina e  $\beta$ -caroteno, bem como os seus isômeros *cis* e neoxantina (Figura 3), além de flavanoides como a rutina, ácidos fenólicos como o ácido cafeico, e tocoferol.

**Figura 3** - Estrutura dos principais carotenoides encontrados em goji berry: (a)  $\beta$ -caroteno, (b) zeaxantina, (c) neozantina e (d) criptoxantina.



Fonte: ZHONG; SHAHIDI; NACZK (2012).

Apesar de existir uma grande quantidade de carotenoides, muitos já quantificados, é possível que existam outros ainda não identificados e que devido às características do goji



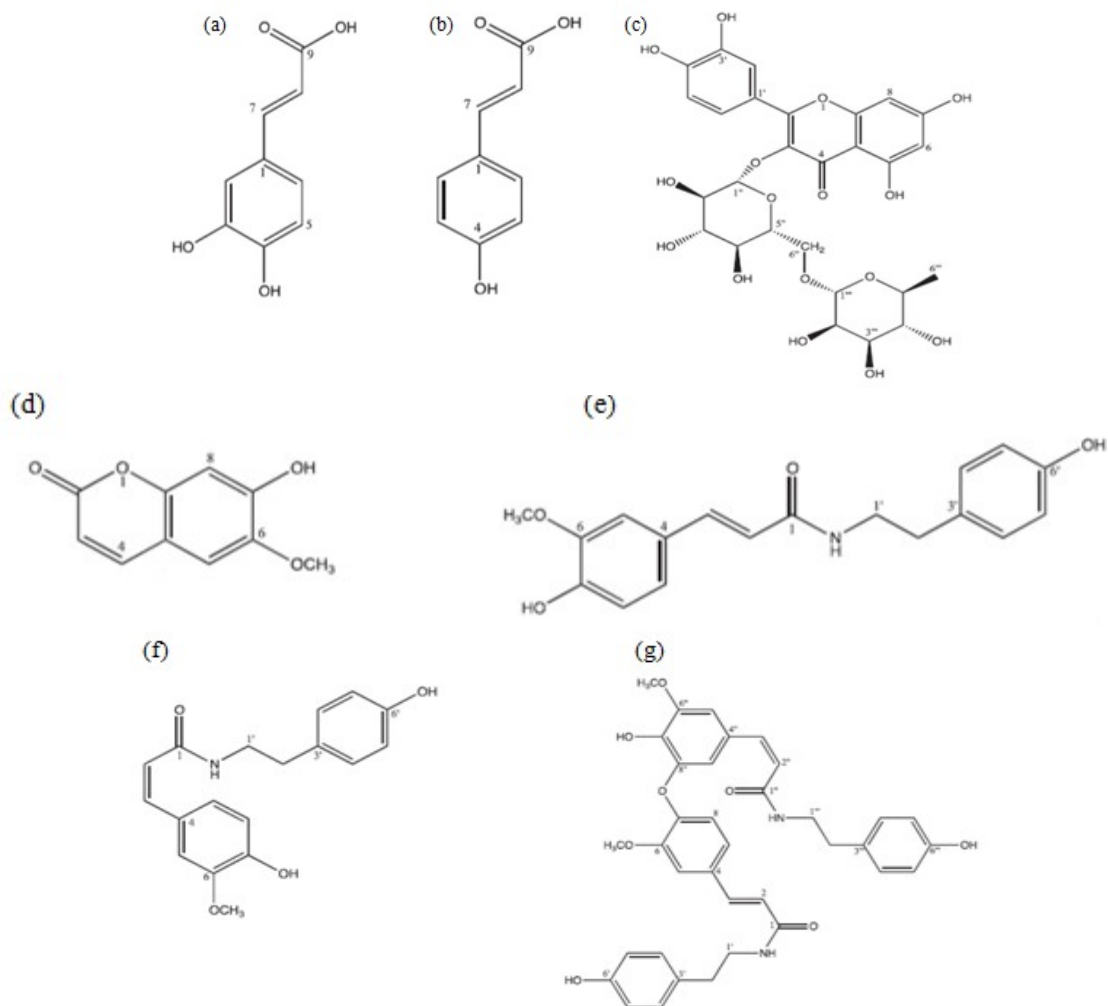
berry outros carotenoides permaneçam ainda desconhecidos no fruto (STEPHEN et al., 2008). Porém, estudos ainda estão em andamento para determinar as particularidades das bagas.

### 2.3.1.2 Fenólicos

Os compostos fenólicos são compostos amplamente distribuídos no reino vegetal e benéficos na dieta humana. São componentes importantes de plantas, com múltiplas funções e como fitoquímicos dietéticos para os seres humanos, exibem uma ampla gama de atividades funcionais e biológicas. Os compostos fenólicos presentes em goji berries são principalmente ácidos fenólicos e flavonoides (ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012).

Estudos demonstraram, através da caracterização dos principais compostos fenólicos a partir da extração feita com água e metanol, que o goji berry (*L. barbarum*) possui sete principais compostos, seis destes são moléculas já conhecidas, como o ácido cafeico, p-cumárico, rutina, escopoletina, N-trans-feruloil tiramina e tiramina N-cis-feruloil e apenas uma, a mais abundante, era uma molécula não declarada que foi identificada como um dímero de N-feruloil tiramina (Figura 4) (FORINO et al., 2016). Wang et al. (2010) também estudaram os compostos fenólicos, porém utilizando etanol a 80%, agitado em banho a 90 °C por 2 h, seguido de centrifugação a 6000 rpm durante 25 min, seguido por separação por cromatografia, foram quantificados quatro ácidos fenólicos: clorogênico, cafeoilquínico, cafeico, e p-coumárico, os quais exibiram um poder redutor metálico e atividade antioxidante.

**Figura 4** - Estruturas químicas dos principais compostos fenólicos mais abundantes em goji berry: (a) ácido cafeico, (b) p-cumárico, (c) rutina, (d) escopoletina, (e) Ntrans-feruloil tiramina, (f) tiramina N-cis-feruloil e (g) N-feruloil tiramina.



Fonte: FORINO et al. (2016), com modificações.

## 2.4 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

A extração de compostos fenólicos de vegetais pode ser influenciada pelo método de extração, por sua natureza química, pelo tamanho das partículas destes materiais, tempo de armazenamento e condições, além da presença de substâncias interferentes. Os compostos fenólicos e os seus complexos podem ser bastante insolúveis dependendo do tipo de solvente que se utiliza (NACZK; SHAHIDI, 2006).

A literatura relata inúmeras formas quanto à preparação de amostras para a extração de compostos fenólicos, por isso é necessário atenção na hora da escolha, pois a técnica

empregada, o solvente ou a temperatura podem interferir na extração destes compostos. A atividade antioxidante pode ser medida a partir de extratos obtidos utilizando vários solventes, dentre eles inclui-se o metanol, acetona, etanol, clorofórmio ou suas misturas com água em várias proporções. Deste modo, o ponto crucial é a investigação para escolher um solvente adequado. A influência da polaridade pode ser confirmada, uma vez que extratos obtidos com um solvente de polaridade inferior apresentaram maior capacidade antioxidante, a exemplo dos extratos preparados com metanol (SIELICKA; SAMOTYJA, 2013).

Outros componentes não antioxidantes podem interferir na capacidade antioxidante, sendo que o tipo de solventes e sua polaridade também podem afetar a transferência de elétrons e átomos de hidrogênio que são importantes nas medições da capacidade antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

Não existe um procedimento único ou totalmente satisfatório para uma adequada extração de todos os compostos fenólicos ou classe específica em materiais vegetais. Portanto, há uma necessidade de investigação para a melhor forma de preparação de amostras e para a determinação de compostos fenólicos de alimentos (NACZK; SHAHIDI, 2006; ÂNGELO, JORGE, 2007).

## 2.5 CONTEÚDO DE FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos em frutas contribuem com a cor e sabor, o teor de fenóis varia entre 100 e 1.400 mg.100 g. de peso fresco, sendo constituídos de derivados dos ácidos hidrocínâmicos e hidroxibenzoico, além dos flavonóis, flavonas, resveratrol, catequinas e antocianinas. Estes possuem uma grande diversidade estrutural, são substâncias aromáticas hidroxiladas, que variam de uma simples molécula a polímeros, encontrados naturalmente em frutas, hortaliças, cereais, café, chocolate. Porém, são altamente instáveis e rapidamente podem ser destruídos. Além de estarem associados ao efeito protetor, atribuído ao poder antioxidante, são capazes de neutralizar a ação dos radicais livres e de complexar com íons metálicos, diminuindo sua ação pró-oxidante. Os antioxidantes são agentes que restringem os efeitos maléficos das reações de oxidação. Em alimentos são importantes para sua estabilidade, ou seja, protegem contra a ação oxidativa por meio da sua atividade antioxidante (ARAÚJO, 2011).

A quantificação espectrométrica de compostos fenólicos é realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia, a mais utilizada emprega o reagente Folin-Ciocalteu,

desenvolvido por Singleton e Rossi (ROSSI; SINGLETON, 1965). A quantificação ocorre através de uma cuva padrão construída com ácido gálico, sendo este o mais utilizado, que se baseia na determinação do teor de compostos fenólicos que estão presentes na amostra analisada, através de com alterações da absorbância durante o decorrer da reação. O teor de fenóis totais é expresso em equivalentes do ácido gálico. Determinando tanto fenóis simples como polifenóis.

## 2.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Muitos pesquisadores estimam a capacidade antioxidante *in vitro* em vegetais. Esse procedimento difere em termos de substratos, condições de reação e métodos de quantificação. São mais utilizados na determinação do potencial antioxidante atualmente os métodos *ABTS*, *FRAP*, *ORAC* e *DPPH* (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006), sobretudo os ensaios de *DPPH* e *FRAP*.

### 2.6.1 DPPH

O método *DPPH* desenvolvido por Brand-Williams et al. (1995), baseia-se na capacidade do radical estável 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (*DPPH*•) de reagir com doadores de hidrogênio, como os compostos fenólicos, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm.

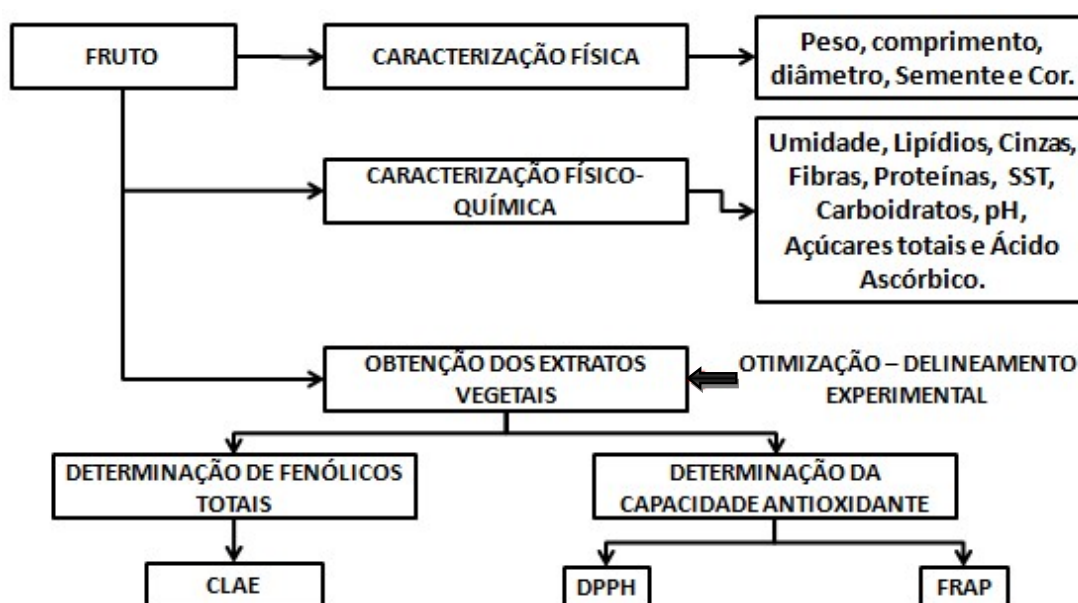
### 2.6.2 FRAP

Segundo Araújo (2011), o ensaio do *FRAP* (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) está baseado na capacidade de um antioxidante em reduzir o  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ . Em condições ácidas, em presença de 2,4,6-Tris (2-piridil) -1,3,5-triazina (TPTZ), a redução é acompanhada pela formação de uma coloração azul intenso, com absorção máxima a 593 nm. Estudo sugere que este método pode fornecer resultados comparáveis aos de outras metodologias (RUFINO et al., 2006).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Todas as análises e os procedimentos necessários foram realizados na Universidade Federal da Paraíba, no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM), do Departamento de Química, do Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN), e no Laboratório de Química de Alimentos (LAQA), do Departamento de Engenharia de Alimentos, do Centro de Tecnologia (CT). A Figura 5 apresenta o fluxograma das etapas das análises realizadas neste estudo.

**Figura 5** - Etapas de realização das análises.



Fonte: Próprio autor.

#### 3.1 REAGENTES

Os padrões de ácido gálico, DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), TPTZ (2,4,6-Tris (2-piridil)-1,3,5-triazina), ácido ascórbico e TROLOX (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O reagente Folin-Ciocalteu foi obtido da Merck. Os reagentes cloreto de ferro hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), acetato de sódio trihidratado e carbonato de sódio foram adquiridos da Vetec Química Fina Ltda. E os demais reagentes e solventes de grau analítico da FMAIA e a água ultrapura do equipamento Purelab (Elga).

### 3.2 OBTENÇÃO DO FRUTO

No estado da Paraíba ainda não é possível encontrar o goji berry *in natura*, por isso optou-se pelo uso do fruto desidratado nas análises. Para isto, foram utilizados frutos desidratados pertencentes a um mesmo lote adquirido no comércio local de João Pessoa, PB (Figura 6). A seleção do fruto foi feita a partir da observação visual mediante a aparência da coloração (brilhantes), tamanho uniforme, sendo descartados os oxidados, verdes e com algum processo de deterioração.

**Figura 6** - Goji berry desidratado.



Fonte: Próprio autor.

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA

Os frutos foram escolhidos aleatoriamente no lote para a caracterização física. Segundo Cecchi (2003), a amostragem deve compreender no mínimo de 5 a 10% do peso total do alimento a ser analisado. Chitarra e Chitarra (2005) mencionam que as avaliações físicas são realizadas com o auxílio de instrumentos como paquímetro, texturômetro, balança, etc.; para medição de peso, tamanho, textura, e partes componentes (polpa, caroço e casca).

A partir do lote foi retirada uma amostragem de 50 frutos para as determinações de massa, comprimento, diâmetro e número de sementes.

### 3.3.1 Massa dos frutos

Foi determinada pela média de massa dos frutos inteiros medida individualmente, expressa em gramas (g). Para esta determinação foi utilizada uma balança analítica digital da marca Shimatzu AY220, com precisão de 0,0001g.

### 3.3.2 Dimensão dos frutos

Através do auxílio de um paquímetro digital (Max 150 mm digital, inox) com precisão de 0,01 mm, foram feitas a medição do comprimento e do diâmetro dos frutos. A média foi expressa em milímetros (mm) (RINALD; LIMA; ASCHERI, 2010).

### 3.3.3 Sementes

As sementes foram separadas manualmente com o auxílio de uma espátula, e a contagem determinada por fruto, sendo a média dos valores expressa em unidades por fruto (un/fruto) (MONTEIRO et al., 2015).

### 3.3.4 Cor

A análise da cor do fruto foi feita em colorímetro modelo Color Quest XE CQX – 3725 (Spex Sav – Retro), no modelo CIE (Comissão Internacional de Iluminação) sistema  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ . Os resultados obtidos foram utilizados para calcular o  $h^\circ$  (ângulo de cor) através da fórmula  $h^\circ = \tan^{-1} (b^*/a^*)$  e  $C^*$  (cromaticidade) por  $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  (MCGUIRE, 1992).

## 3.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

### 3.4.1 Umidade

Para a determinação da umidade do fruto pesou-se cerca de 5 g da amostra previamente triturada e homogeneizada em cápsula metálica submetida à secagem em estufa a vácuo da Tecnal, modelo TE-395, por 6 horas a  $(70 \pm 2^\circ \text{C})$  sob pressão reduzida,  $\leq 100 \text{ mm Hg}$  (13,3 kPa). Após, as cápsulas foram resfriadas em dessecador até a temperatura ambiente e pesadas. A operação de aquecimento e resfriamento foi repetida até peso constante. O

cálculo foi obtido pela diferença na massa da amostra inicial e final após a secagem (AOAC, 2000).

$$\text{Umidade (\%)} = \left( \frac{PI - PF}{PI} \right) \times 100 \quad (1)$$

onde:

PI = peso inicial da amostra úmida

PF = peso final da amostra seca

### 3.4.2 pH

A determinação do pH da amostra foi efetuada utilizando um pHmetro digital, marca Digimed, previamente calibrado com soluções tampões de pH 7,0 e 4,0 (AOAC, 2005).

### 3.4.3 Proteínas

O teor de proteínas foi determinado pela técnica micro Kjeldahl (AOAC, 2005). Pesou-se 0,5 g da amostra em papel de seda e transferiu-se para o balão de Kjeldahl. Em seguida foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico e cerca de 0,5 g da mistura catalítica. Levou-se ao aquecimento em chapa elétrica, na capela, até atingir 350°C constante por 1 hora até a solução se tornar azul-esverdeada. Logo após o resfriamento, o material foi encaminhado para a destilação e posteriormente titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1 M. Utilizou-se-se o fator 5,75 para transformar o nitrogênio total em teor de proteína bruta.

$$\text{Proteína total (\%)} = \left( \frac{V \times 0,14 \times F}{P} \right) \quad (2)$$

onde:

V = diferença entre o nº de mL

P = nº de g da amostra

F = fator de conversão

### 3.4.4 Lipídios

A fração lipídica foi obtida por extração direta com solvente em aparelho de Soxhlet, utilizando 2 g da amostra em cartucho acoplado em um balão de fundo chato adaptado em um refrigerador de bolas e mantido sob aquecimento em chapa elétrica por 6 horas. Após, o balão



com o resíduo extraído foi mantido cerca de 30 minutos em estufa a 105°C marca Marconi - MA 035, para evaporação residual do solvente (AOAC, 2000).

$$\text{Lipídeos (\%)} = \left( \frac{PL}{PA} \right) \times 100 \quad (3)$$

onde:

PL= peso da fração lipídica

PA= peso da amostra

### 3.4.5 Sólidos solúveis totais (°Brix)

O teor de sólidos solúveis totais foi quantificado em refratômetro portátil, marca INSTRUTHERM, modelo RTA-50, com escala de 0 a 40 °Brix (AOAC, 2005).

### 3.4.6 Cinzas

O teor de cinzas foi determinado através da pesagem de 2 g da amostra em uma cápsula de porcelana, previamente aquecida em mufla da Edcon 3P a 550 °C, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Utilizou-se chapa elétrica, até carbonizar por completo a amostra, que depois foi incinerada em mufla a 550 °C até a eliminação completa do carvão. Quando as cinzas ficaram brancas, os cadinhos foram retirados da mufla e colocados no dessecador até esfriar e foram pesados (AOAC, 2000).

$$\text{Cinzas (\%)} = \left( \frac{N}{P} \right) \times 100 \quad (4)$$

onde:

N = n° de g de cinzas

P = n° de g da amostra

### 3.4.7 Açúcares totais

Para análise dos açúcares totais, adotou-se a metodologia proposta por Miller (1959), utilizou-se 1,0 mL da amostra adicionada em tubo de ensaio juntamente com 1,0 mL da solução de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), em seguida agitou-se e submeteu-se ao aquecimento em banho-maria a 100°C por 5 minutos. O volume foi completado para 10 mL com água destilada, homogeneizado e a intensidade da cor foi avaliada em espectrofotômetro a 540 nm. A curva foi construída a partir de uma solução de glicose nas concentrações de 0,10 a 1,0 g/L. O branco utilizado para zerar o equipamento foi água destilada.

### 3.4.8 Carboidratos totais

Os carboidratos totais foram calculados por diferença, onde subtraiu-se de cem por cento os valores obtidos de umidade, de proteínas, de lipídios, de resíduo mineral fixo (cinzas) e fibra total (BRASIL, 2003).

### 3.4.9 Fibras totais

Em balão de fundo chato pesou-se 2 g de amostra que foram digeridas por 30 minutos sob refluxo em solução contendo 2 g de ácido tricloroacético (TCA), 5mL de ácido nítrico e 70 mL de ácido acético a 70%. Logo após, filtrou-se em cadinho Gooch com camada de filtração e lavou-se com água destilada para eliminar os solventes residuais. Secou-se em estufa a 105 °C por 3 a 4 horas até peso constante, e em seguida resfriou-se em dessecador e pesou-se (KAMER; GINKEL, 1952).

$$\text{Fibras totais \%} = \left( \frac{\text{PI} - \text{PF}}{\text{PA}} \right) \times 100 \quad (5)$$

onde:

PI = peso inicial da amostra mais o cadinho de Gooch

PF = peso final da amostra mais o cadinho de Gooch

PA = peso da amostra

### 3.4.10 Ácido ascórbico

Para a determinação da vitamina C utilizou-se a metodologia proposta por Brasil (2005) - método de Tillmans modificado - que baseia-se na redução do corante sal sódico de 2,6-diclofenol indofenol (DCFI) por uma solução ácida de vitamina C, 1g da amostra foi dissolvido em 50 mL de ácido oxálico e titulado com uma solução de DCFI. O resultado foi expresso em mg.100 mL de ácido ascórbico.

$$\text{Ácido ascórbico mg.100 mL} = \frac{V \times F \times 100}{A}$$

(6)

onde:

V= volume gasto na titulação

F= fator da solução

A= valor da amostra em gramas ou mL

### 3.4.11 Minerais

Para a determinação dos minerais presentes no fruto adotou-se as especificações do fabricante do equipamento, pesou-se 250 mg do fruto e uma cápsula de teflon e adicionou-se 6 mL de ácido nítrico e 1 mL de peróxido de hidrogênio, agitou-se cuidadosamente e deixou-se em repouso por 10 minutos. E em seguida a amostra foi digerida em um digestor, Speed Wave 4, da Berghof, por 10 minutos a temperatura de 170°C.

Logo após, os minerais foram analisados por Espectrometria de Absorção Atômica modo chama (FAAS) e por Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS), conforme a norma EPA 6020A.

### 3.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS

Os frutos foram triturados e submetidos à secagem prévia a 60 °C em estufa a vácuo, modelo TE-395, da Tecnal, por 4 horas. Os extratos vegetais foram obtidos na proporção de 1:10 (amostra:solvente), sendo que 10 g do fruto triturado foram acondicionados em recipientes de vidro, imersos em 100 mL de solvente e submetidos a homogeneização em incubadora da TECNAL, modelo TE-420, com modificações em relação a temperatura à 30 °C, sob agitação a 200 rpm por 4 horas (EPAMINONDAS, 2013; REHMAN, 2006).

No preparodos extratos optou-se por um delineamento estatístico composto por misturas de água, etanol e acetona em diferentes concentrações (Tabela 3).

Posteriormente, foram centrifugados em centrífuga refrigerada da marca Hitachi, modelo *CF – 5RX*, a 5.000 rpm por 15 (quinze) minutos, sendo que o sobrenadante foi filtrado a vácuo com o auxílio de uma bomba, kitasato e papel de filtro, em seguida foram concentrados em estufa de ar circulante Marconi - MA 035, a temperatura de 40 °C, de 24 a 48 horas, até que houvesse a evaporação residual dos solventes utilizados. Após esse período, os extratos foram acondicionados em recipientes protegidos da luz e armazenados em temperatura de refrigeração até o momento de sua utilização.

#### 3.5.1 Delineamento experimental

Na preparação dos extratos, optou-se pela utilização de um delineamento experimental para determinar as melhores condições de extração de compostos fenólicos através de diferentes solventes (Tabela 3). A técnica estatística multivariada utilizada para a otimização da mistura foi o modelo *simplex lattice design* composto de 14 pontos relacionando entre misturas isoladas, misturas binárias e misturas ternárias.

Neste modelo, as diferentes condições testadas formam um triângulo, com componentes puros no vértice, o que representa 100% de cada solvente. Para este estudo adotou-se o modelo matemático mais adequado para as respostas (CFT, DPPH, FRAP), sem restrições para os níveis mínimos e máximos. Este planejamento experimental visa otimizar o processo, utilizando um número mínimo de ensaios, minimizando interferentes, e sugerir a combinação de solventes em função dos diferentes componentes.

**Tabela 3** - Delineamento experimental modelo *simplex lattice design*.

Experimento	Água (%)	Etanol (%)	Acetona (%)	Total (%)
1	100	0	0	
2	0	100	0	
3	0	0	100	
4	33	67	0	
5	33	0	67	
6	0	33	67	
7	67	33	0	100
8	67	0	33	
9	0	67	33	
10	33,3	33,3	33,4	
11	67	16,5	16,5	
12	16,5	67	16,5	
13	16,5	16,5	67	
14	33,3	33,3	33,4	

Neto et al. (1995), em sua pesquisa definem o delineamento *simplex* como sendo pontos internos centroide global composto por três variáveis independentes. O modelo cúbico completo pode ser expresso por:

$$y = b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + b_3 \cdot x_3 + b_{12} \cdot x_1 \cdot x_2 + b_{13} \cdot x_1 \cdot x_3 + b_{23} \cdot x_2 \cdot x_3 + d_{12} \cdot x_1 \cdot x_2 \cdot (x_1 - x_2) + d_{13} \cdot x_1 \cdot x_3 \cdot (x_1 - x_3) + d_{23} \cdot x_2 \cdot x_3 \cdot (x_2 - x_3) + b_{123} \cdot x_1 \cdot x_2 \cdot x_3 \quad (7)$$

onde:

y = variável dependente ou resposta

b = coeficientes da equação

x = variáveis independentes

Os solventes escolhidos na aplicação deste estudo foram a água, o etanol e a acetona, em que (n = 3):  $x_1$  = água,  $x_2$  = etanol,  $x_3$  = acetona, nas proporções.

### 3.6 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FENÓLICOS TOTAIS

O conteúdo de fenólicos totais (CFT) foi analisado pelo método espectrofotométrico utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (SLINKARD; SINGLETON, 1977). Uma alíquota de 300  $\mu\text{L}$  de cada um dos experimentos do delineamento estatístico foi transferida para tubos de ensaio, em seguida foram adicionados 60  $\mu\text{L}$  do reagente Folin-Ciocalteu e agitados por 30 segundos, depois foi adicionada uma alíquota de 2460  $\mu\text{L}$  de água destilada e 180  $\mu\text{L}$  da solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 15% e agitados novamente durante 30 segundos. Após agitação, o conteúdo foi mantido à temperatura ambiente, em repouso, e protegido da luz reagindo por duas horas.

A leitura da absorbância foi realizada a 760 nm em espectrofotômetro UV-*vis* da Shimadzu, modelo UV-2550. Uma curva padrão com ácido gálico, nas concentrações de 1; 2,5; 5; 10; 15 e 20  $\mu\text{g/mL}$  foi obtida nas mesmas condições. Os resultados foram expressos em mg de EAG (equivalente de ácido gálico) por g do extrato ( $\text{mg EAG.g}^{-1}$ ).

### 3.7 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

#### 3.7.1 Método de sequestro de radicais livres DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)

A atividade antioxidante foi analisada pelo método desenvolvido por Brand-Williams et al. (1995). Este método é baseado na desativação do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por substâncias antioxidantes reduzindo a absorbância medida a 515 nm.

Para o ensaio, na ausência de luz, foi adicionada uma alíquota de 90  $\mu\text{L}$  de cada amostra misturada com 210  $\mu\text{L}$  de etanol e 2.700  $\mu\text{L}$  da solução de DPPH• ( $47,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$  em EtOH), nos tubos de ensaio protegidos da luz. Os tubos permaneceram em incubadora da Tecnal, modelo TE-420, em agitação por 30 minutos. Após, foi efetuada a leitura a 517 nm, em espectrofotômetro UV-*vis* da Shimadzu, modelo UV-2550. Preparou-se uma curva padrão com Trolox nas concentrações de 100, 500, 1000, 1.500 e 2.000M, utilizando etanol para zerar o equipamento.

A leitura da absorbância da amostra foi correlacionada com a absorbância da solução etanólica do radical DPPH• (controle). Os resultados foram expressos em Trolox ( $\mu\text{Mol TEAC/ g de amostra}$ ).

### 3.7.2 Método de redução do ferro – FRAP

O poder redutores do ferro pelo método FRAP foi avaliado seguindo-se a metodologia proposta por Rufino et al. (2006), preparando-se uma solução do reagente FRAP, composta a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL da solução TPTZ a 10 mM e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico 20 mM.

A partir das soluções dos extratos vegetais (5 mg.mL<sup>-1</sup>), adicionou-se 90 µL de amostra em cada tubo e acrescentou-se 270 µL de água destilada. Em seguida adicionou-se 2,7 mL do reagente FRAP. Após homogeneização, os tubos foram mantidos em banho-maria a 37 °C. O espectrofotômetro foi calibrado com o reagente FRAP e as leituras da absorbância foram realizadas após 30 minutos da mistura, em 595 nm. Uma curva foi construída utilizando Trolox (concentração de 500 a 2000 µM).

A partir da equação da reta do gráfico concentração (mg.L<sup>-1</sup>) *versus* absorbância, (X vs Y) pode-se calcular a AAT, substituindo na equação da reta a absorbância equivalente a 1.000 µM do padrão Trolox. O valor obtido para o termo X corresponde à diluição da amostra (mg.L<sup>-1</sup>) equivalente a 1.000 µM de sulfato ferroso. O resultado foi expresso em µMol TEAC/g de amostra.

### 3.8 ANÁLISE DO PERFIL DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

As análises de identificação e quantificação dos compostos fenólicos foram feitas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), Shimadzu (Kyoto, Japão), equipado com um injetor automático Rheodyne 7125i e um detector UV/VIS. As colunas utilizadas foram uma coluna Shimadzu LC-18 (25 cm x 4,6 mm, 5µm particle size, da Supelco, Bellefonte, PA) e uma pré-coluna C-18 ODS Shimadzu. Para a identificação dos compostos fenólicos, as amostras foram diluídas com um sistema gradiente que consiste em solvente A (2% ácido acético, v/v) e solvente B (acetonitrila:metanol, 2:1, v/v), utilizados como fase móvel, com um fluxo de 1 mL/min. A temperatura da coluna foi mantida a 25 °C e o volume de injeção foi de 20 µL. O sistema de gradiente iniciou-se a partir de 90% A a 0 min, 80% A em 10 min, 70% A em 15 min, 60% A em 25 min, 50% A em 30–40 min, 75% A em 42 min, e 90% A em 44 min. (PRASAD et al., 2009). Os picos dos compostos fenólicos foram monitorados a 280 nm. O software Lab Solutions (Shimadzu) foi usado para controlar o sistema de LC-UV e de processamento de dados.

### 3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todo as análises foram realizadas em triplicatas, com exceção do cálculo de carboidrato que foi obtido por diferença. Os resultados foram expressos na forma de média  $\pm$  desvio padrão. Os resultados da ANOVA, regressão e superfície de resposta a partir de modelos ajustados pelo simplex lattice foram obtidos utilizando Statistica 7.0 (StatSoft, USA). Para cada resposta, os modelos: linear, quadrático e cúbico foram testados.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA

Os resultados obtidos na caracterização física do goji berry estão representados na Tabela 4.

**Tabela 4** - Resultados da caracterização física do goji berry.

	Mínimo	Máximo	Média*
<b>Peso (g)</b>	0,068	0,292	$0,139 \pm 0,04$
<b>Comprimento (cm)</b>	0,62	1,72	$1,24 \pm 2,19$
<b>Diâmetro (cm)</b>	0,46	0,66	$0,59 \pm 0,81$
<b>Sementes (um)</b>	10	36	23

\* Valores constituem médias  $\pm$  desvio-padrão de 50 frutos.

Os frutos utilizados neste trabalho apresentaram uma variação de peso na faixa de 0,068 a 0,292 g. Observou-se bastante irregularidade no comprimento das bagas, de 0,62 a 1,72 cm, ao contrário do diâmetro dos frutos, que apresentou pouca variação, de 0,46 a 0,66 cm. O número de sementes presentes no fruto apresentou média de 23 um/fruto, no entanto, verificou-se, em alguns frutos, a presença de até 36 unidades de sementes/fruto.

Há uma grande escassez na literatura quanto a caracterização física dos frutos de goji berry, desidratados. Snow e Snow (2010) encontraram valores semelhantes aos do presente estudo, sendo que o fruto apresentava em média 0,85 g de peso fresco com cerca de 81% de teor de água da polpa, comprimento de 1,8 cm, diâmetro de 1,0 cm e a quantidade de sementes também foi bastante variável de 11 a 34 un com média de 20,2, além disso possuíam 0,0013 g de peso por semente (3,5%), podendo as bagas elipsoides chegar de 0,8 a 2 cm de comprimento (AMAGASE; FARNSWORTH, 2011; ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012) e 0,5 a 1,0 cm de diâmetro quando maduras.

A divergência no peso se deve pelo fato de que o fruto utilizado na caracterização física estava desidratado e possuía cerca de 8% de umidade, enquanto Snow e Snow (2010), fizeram sua pesagem de massa em frutos frescos com maior quantidade de umidade, algo que interfere significativamente no peso do fruto. Além disso, os frutos ao atingirem o pleno

desenvolvimento apresentam peso variável dentro de certos limites típico da cultivar, ou seja, são bem flexíveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Existe uma relação entre o tamanho da fruta com a quantidade de sementes em uma mesma cultivar, que pode ser devido ao clima, pragas, espaçamento entre as árvores, fecundação ou outros fatores relacionados com o ciclo de reprodução (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Segundo Maattieto; Lopes e Menezes (2010), a falta de uniformidade referente ao comprimento, às dimensões e ao peso dos frutos é comum, já que a região produtora, a maneira e técnicas de cultivo, o clima da região, e outros fatores podem afetar as características dos frutos.

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), a determinação das características físicas é de extrema importância tanto na pré como na pós-colheita de produtos hortícolas, pois estas auxiliam na indicação quanto ao grau de maturação e do ponto ideal de colheita, além de serem determinantes na padronização e classificação. A textura, o tamanho, o peso, a forma (diâmetro, comprimento), a espessura da casca, quantidade de sementes, polpa e o rendimento em suco ou polpa são as principais características avaliadas em frutas. O tamanho e sua forma são atributos importantes, pois variações na uniformidade podem afetar a escolha do consumidor, além de ser um critério utilizado para distinguir diferentes cultivares de uma mesma espécie. Porém, a desidratação do fruto pode promover modificações físicas, como na textura ou cor do produto final, ressecamento, perda de aroma e sabor (OLIVEIRA, 2009). Contudo, a desidratação pode agregar valor ao produto, destacando seu aroma e sabor, além de diminuir a atividade de água proporcionando maior vida de prateleira (NETO et al., 2005).

A coloração de frutos está relacionada com atributos de qualidade, uma vez que a aparência influencia na escolha do consumidor, e a pigmentação pode estar interligada com a maturação do fruto. Existem vários ensaios que avaliam a qualidade das frutas, e em se tratando da análise de cor, ela pode ser feita visualmente com auxílio de escalas em função do grau de maturação de determinado fruto, ou métodos químicos. Os aparelhos mais utilizados são os espectrofotômetros e os colorímetros que medem a energia luminosa refletida ou transmitida pela superfície relacionando-a com um padrão de referência (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Segundo Oliveira et al. (2011), no sistema de cor conhecido como CIELab, o  $L^*$  representa a luminosidade e seus valores variam de 0 (preto) ao 100 (branco), as coordenadas de cor são  $-a^*$  (verde),  $+a^*$  (vermelho),  $-b^*$  (azul) e  $+b^*$  (amarelo). Além disso, através das

coordenadas de cor é possível obter os parâmetros de  $C^*$  (cromaticidade) e  $h^\circ$  que indica a tonalidade da cor.

Ao analisar os parâmetros de cor ( $L^*a^*b^*$ ) (Tabela 5), verificou-se a medida de luminosidade ( $L^*$ ) do goji berry de  $33,73 \pm 0,01$ ,  $a^*$   $28,75 \pm 0,04$  e  $b^*$   $19,94 \pm 0,40$ . A partir das coordenadas de cor, o fruto apresentou a cromaticidade ( $C^*$ ) de  $33,29 \pm 0,03$  e a tonalidade de cor ( $h^\circ$ )  $34,66 \pm 0,02$ .

**Tabela 5** - Valores das coordenadas de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^\circ$  e  $C^*$ ) de frutos de goji berry (*Lycium barbarum* L.).

Parâmetro <sup>1</sup>	Resultado
$L^*$	$33,73 \pm 0,01$
$a^*$	$28,75 \pm 0,04$
$b^*$	$19,94 \pm 0,40$
$h^\circ$	$34,66 \pm 0,02$
$C^*$	$33,29 \pm 0,03$

<sup>1</sup>Valores constituem médias  $\pm$  desvio-padrão em triplicata.

Segundo McGuire (1992), quando o ângulo de tonalidade tende a 0 apresenta a cor vermelho-roxo, 90° cor amarelo, 180° verde-azulado e 270° azul. A partir destes dados é possível caracterizar o goji berry como sendo um fruto de coloração vermelha obtido da variável  $a^*$ . Em relação as variáveis  $C^*$  e  $h^\circ$  o fruto tende à laranja-vermelho. Não há dados da análise de cor pelo modelo CIElab na literatura em goji berry, porém, ao comparar estes valores com leituras feitas em superfícies externas da parede de tomates, este também pertencente à família das Solanaceae, encontram-se próximos aos relatados por Carvalho et al. (2005), onde o  $L^*$  variou de 36,65 a 37,01,  $a^*$  de 27,16 a 29,13 e  $b^*$  de 18,84 a 22,46, caracterizando-o com tonalidade vermelha. Em que o valor de  $L^*$  decai com a intensidade da cor vermelha ( $a^*$ ) devido à síntese de compostos como licopeno e betacaroteno, e decréscimo de outros, como a clorofila.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

De acordo com a Tabela 6, o goji berry apresentou um baixo teor de umidade em torno de  $8,44 \pm 0,05$  g. 100 g. Dados fornecidos pelo USDA (2012) mencionam valores de 7,50 g. 100 g e 10,34 g. 100 g (ENDES et al., 2015) de umidade.

**Tabela 6** - Parâmetros físico-químicos de *Lycium barbarum* L. (goji berry) em 100 g.

Análises	Resultados
Umidade (g)	$8,44 \pm 0,05$
Lipídios (g)	$1,01 \pm 0,01$
Proteínas (g)	$14,48 \pm 0,05$
Carboidratos (g)	72,95
Fibra total (g)	$4,66 \pm 0,04$
pH	$2,92 \pm 0,02$
Vitamina C, ácido ascórbico (mg)	$47,45 \pm 0,01$
Açúcares totais (g)	$36,11 \pm 0,02$
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	$13,00 \pm 0,01$
Resíduo mineral fixo (g)	$3,12 \pm 0,10$
VET (kcal. 100 g)	358,09

\*Os valores constituem médias  $\pm$  desvio-padrão, com exceção dos carboidratos estimados por diferença, do valor energético total (VET) calculado por meio dos fatores de conversão de Brasil (2003).

Em relação à quantidade de lipídios houve divergência, pois a literatura relata que o goji apresenta em média de 1,5 g. 100g (ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012) a 4,11 g. 100g. (ENDES et al., 2015), valores superiores ao encontrado neste estudo (1,01 g. 100g).

Quanto à quantidade de proteínas totais de 14,48 g. 100g não houve diferença aos valores encontrados por Zhong; Shahidi e Naczk (2012) (13 g. 100 g) e USDA (2012) (14,26 g. 100g), porém esse valor foi superior quando comparado ao de Endes et al. (2015) de 8,9 g. 100g de proteína no fruto.

Através do cálculo por diferença obteve-se o valor de 72,95 g. 100g de carboidratos totais. Estes foram inferiores aos valores já registrados de 77,06 g. 100g (USDA, 2012) para

frutos de goji berry seco, porém se faz necessário destacar que essa técnica mesmo bastante utilizada na estimativa de carboidratos por diferença, pode não ser tão precisa podendo revelar uma alta variação por se tratar de um cálculo que depende de outros nutrientes (MENEZES; GIUNTINI; LAJOLO, 2003).

Em relação ao conteúdo de fibra total de 4,66 g. 100g mostrou-se menor que os encontrados na literatura de 7,30 g. 100g (ENDES et al., 2015), 13,0 g. 100g (USDA, 2012), e do citado por Zhong; Shahidi; e Naczk (2012) de 16 g. 100g.

Segundo o USDA (2012), o goji berry possui cerca de 0,78 g. 100g de cinzas, entretanto a quantidade encontrada foi de 3,12 g. 100g sendo superior ao já mencionado antes. Neste caso sugere-se que a quantidade de sementes presentes no fruto tenha influenciado no elevado teor de cinzas.

O valor de pH de  $2,92 \pm 0,02$  foi inferior ao de Donno et al. (2014) de 3,14 g., porém este fator pode estar relacionado à maturação do fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Não houve diferença entre o teor de vitamina C de 47,45 mg.100g com os de 48,4 mg. 100g (USDA, 2012) e 48,94 mg. 100g (DONNO et al., 2014), sendo similares entre si.

Os sólidos solúveis totais (SST) encontrados de 13,00 °Brix foram numericamente superiores inferiores aos 11,63 °Brix descritos por Donno et al. (2014).

Por fim, o valor energético aproximado foi calculado a partir dos valores de conversão para carboidratos (4 kcal. g), proteínas (4 kcal. g) e gorduras (9 kcal. g), e apresentou um VET de 358,09 kcal. 100g, valor acima do reportado antes de 349 kcal. 100g (BRASIL, 2003).

Em relação ao fruto estudado, de acordo com os dados obtidos, é possível observar que a maioria dos resultados condiz com os já mencionados na literatura até o presente momento, apenas para os carboidratos, cinzas e quantidades de fibras houve diferenças significativas. Isso pode ser explicado por Menezes; Giuntini e Lajolo (2003), pois há inúmeros fatores que justificam as variações de determinados componentes, ainda que estes sejam da mesma espécie, e que não devam ser considerados como absolutos, essas diferenças nem sempre significam erros, visto que os valores apresentam uma estimativa média referente a um determinado número de amostras compiladas. Também deve-se atentar para alguns aspectos como safra, solo, clima, região, caráter biológico, entre outros.

Com a finalidade de se obter melhores resultados quanto às particularidades do goji berry, foi feita a identificação e quantificação dos minerais. A Tabela 7 apresenta os valores de minerais encontrados nos frutos de goji berry desidratados. Dentre os elementos minerais encontrados, o maior teor registrado foi o de potássio, seguido de sódio, magnésio, cálcio,

alumínio e ferro. Foram observados traços de cobre, zinco, chumbo, níquel, cobalto, selênio, cádmio e cromo em baixas concentrações.

**Tabela 7** - Composição mineral presente em goji berry.

<b>Elemento</b>	<b>(mg.100g)</b>
Cálcio	42,4800
Magnésio	54,0000
Ferro	1,0800
Sódio	210,2400
Potássio	810,3600
Alumínio	3,1111
Manganês	0,4395
Cobre	0,0108
Zinco	0,0108
Chumbo	0,0540
Níquel	0,0007
Cobalto	0,0007
Selênio	0,0007
Cádmio	0,0007
Cromo	0,0022

Os resultados encontrados neste estudo foram próximos aos mencionados pelo USDA (2012) que relata concentrações de sódio (290 mg. 100g), magnésio (54 mg. 100g) e para ferro (6,08 mg. 100g). Endes et al. (2015) também encontraram elevadas concentrações de potássio (1344,74 mg. 100g), fósforo (110,33 mg. 100), cálcio (100,34 mg. 100g), magnésio (80,68 mg. 100g), ferro (4,57 mg. 100g), com os valores acima dos resultados obtidos nesta pesquisa.

Estudo mais recente analisou o conteúdo mineral e os níveis de oligoelementos em sucos de goji, cápsulas de goji, suco de romã, cápsulas de romã, sementes de chia, sucos de açaí, sucos de mangostão, e misturas de bagas, também conhecidos como “superalimentos”. O

estudo demonstrou que frutos de goji apresentam grandes quantidades de potássio (1460 mg. 100g), sódio (550 mg. 100g), fósforo (184 mg. 100g), magnésio (90 mg. 100g), cálcio (50 mg. 100g), ferro (5,5 mg. 100g), zinco (1,3 mg. 100g), manganês (0,9 mg. 100g), cobre (0,7 mg. 100g), níquel (0,06 mg. 100g), molibdênio (0,01 mg. 100g), e cobalto (0,004 mg. 100g). Também foram encontrados para todas as amostras baixos níveis de elementos tóxicos que não apresentam riscos para a saúde humana. Além disso, o estudo revelou que a melhor forma de introduzir o goji na alimentação seria *in natura*, pois os conteúdos de minerais foram superiores quando comparados às cápsulas e sucos de goji, pois estes apresentaram contribuições mínimas desses minerais (LLORENT-MARTÍNEZ et al., 2013).

Em relação aos valores de metais pesados observou-se um teor elevado de chumbo enquanto o máximo permitido é de 0,020 mg. 100g, em relação à concentração de cádmio está dentro do máximo permitido de 0,0050 mg. 100g (BRASIL, 2013).

A quantidade e a disponibilidade dos minerais em alimentos estão relacionadas diretamente com o valor nutricional (REIS; GANÇALVES, 2015). Estes desempenham inúmeras funções indispensáveis tanto em sistemas vivos como em alimentares, ainda que presentes em pequenas concentrações nos alimentos, como o cálcio, que desempenha dentre outras funções a de coagulação do sangue, o fósforo em mineralização dos ossos, o ferro no transporte de oxigênio, entre outros (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

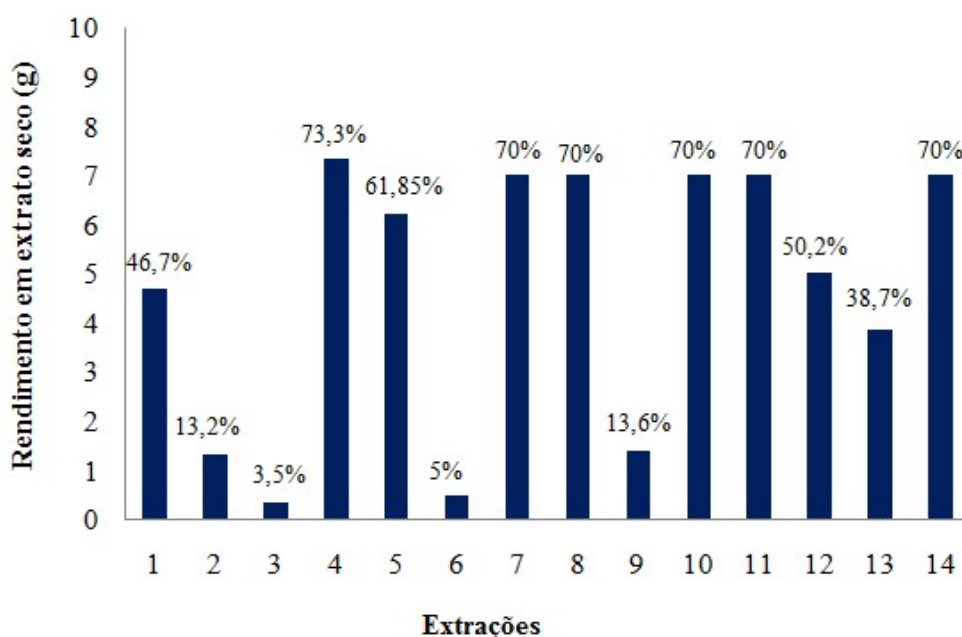
Além da ingestão dos macronutrientes, há a necessidade contínua do consumo de minerais, pois estes ajudam na reposição das perdas que ocorrem pelas trocas biológicas, porém deve-se respeitar a quantidade e a especificidade. Considerando-se como essenciais o cálcio, o fósforo, o magnésio, o sódio, o potássio, o ferro, o cobre, o cobalto e o manganês, os demais não são por não haver deficiência no organismo. As frutas e hortaliças apresentam teor relativamente elevado de minerais (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

É possível sugerir que a quantidade e composição do mineral presente pode variar de acordo com sua origem geográfica, as condições climáticas, regiões, as diferenças no tipo de colheita, pós-colheita, tratamentos utilizados e o uso de fertilizantes (BOOIJ et al., 1992; ENDES et al., 2015).

### 4.3 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

Foi avaliado o efeito dos diferentes solventes e suas respectivas proporções no rendimento em extrato seco, após a remoção dos solventes empregados no processo (Figura 7).

**Figura 7** - Rendimento em extrato seco da amostra nas diferentes proporções dos solventes água, etanol e acetona.



Fonte: Próprio autor.

De acordo com a Figura 7, nota-se que alguns extratos apresentaram um rendimento maior que os demais, em geral os maiores rendimentos obtidos foram dos extratos preparados a partir de misturas binárias e ternárias.

Ao preparar os extratos com apenas um solvente, observou-se que a água 100% (v/v) obteve maior rendimento, 4,67 g. Isso representa cerca de 46,7% do peso inicial, enquanto etanol 100% (v/v) 1,32 g (13,2%) e acetona 100% (v/v) 0,35 g (3,5%), em peso seco, respectivamente.

Quando se combinou dois solventes, ou seja, misturas binárias água e etanol, água e acetona, acetona e etanol, houve um aumento de rendimento, demonstrando sua maior interação quando combinados do que quando isolados. Os rendimentos foram 73,3% para água/etanol (33:63 v/v), 61,85% para água/acetona (33:63 v/v), 70% para água/etanol (67:33), 70% para água/acetona (67:33). É possível observar que quando diminui-se a concentração tanto do etanol quanto da acetona e aumenta-se a proporção de água, o rendimento dos



extratos é potencializado, e ambos ficam praticamente com os mesmos valores de peso seco. Porém, quando a água não é utilizada no processo e combina-se etanol e acetona, o rendimento dos extratos diminui ao ponto de apresentarem praticamente o mesmo peso de suas misturas isoladas. Neste caso, é possível identificar que a água é um dos fatores determinantes no rendimento de peso seco dos extratos quando associada às misturas binárias.

Em relação às misturas ternárias, o maior rendimento foi 70% para água/etanol/acetona (33,3:33,3:33,4) e água/etanol/acetona (67:16,5:16,5), porém, quando diminui o conteúdo de água, o rendimento é reduzido a valores de 50,2% para água/etanol/acetona (16,5:67:16,5) e 38,7% para água/etanol/acetona (16,5:16,5:67). Logo, nas misturas ternárias, ao aumentar-se ou diminuir-se o conteúdo de água presente na mistura, o rendimento é afetado, isso significa que quanto maior a concentração de água, maior é o rendimento, ao passo que quanto menor a quantidade dela, menor também será o rendimento. Além disso, outro fato que mostra a interação dos solventes é que quando se combina os três solventes com a mesma concentração de água, variando apenas a concentração de etanol ou acetona, obtêm-se um maior rendimento quando utiliza-se o etanol.

A literatura já mencionou que extratos preparados a partir de goji utilizando etanol a 95% como solvente obtiveram rendimento de 13,8 g em peso seco (LE; CHIU; NG, 2007). Outro estudo proposto por Rehman (2006) obteve extrato de casca de frutas cítricas a partir de seis solventes orgânicos: etanol, metanol, acetona, hexano, éter de petróleo e éter dietílico. Neste caso não foi realizada mistura entre solventes, no entanto, a quantidade máxima de extrato foi obtida quando foi empregado o metanol (extrato metanólico). Isto pode ser explicado pela relação entre a polaridade dos compostos fenólicos presentes nas matrizes alimentares e os solventes de extração.

Moreira et al. (2014), em seu estudo, utilizaram um planejamento de misturas para a extração de cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos, empregando os solventes etanol, acetato de etila, diclorometano e hexano, e concluíram que os maiores rendimentos dos extratos foram obtidos quando se utilizaram misturas binárias, como etanol:acetato de etila, etanol:diclorometano e etanol:hexano do que nos solventes puros.

Na preparação dos extratos foi possível comprovar como o comportamento de um determinado solvente, composição química e a técnica de extração influenciam no poder de extração (DEPKEVICIUS et al. 1998) e que a porcentagem de extrato seco pode variar dependendo da espécie e técnica usada para a extração (LUZIA; BERTANHA; JORGE 2010). Assim, na preparação de extrato de goji berry os maiores rendimentos em extrato seco foram obtidos ao utilizar etanol a 67% (ensaio 4, rendimento de 73%).

#### 4.4 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos nos experimentos do delineamento de misturas simplex lattice, a partir da qual foi obtida a ANOVA da regressão dos modelos (Tabela 9) e as curvas de contorno (Fig. 8, Fig. 9, Fig. 10) em função dos solventes e suas interações para otimização de extração dos compostos fenólicos em goji berry.

**Tabela 8** - Variáveis experimentais e resultados utilizados no modelo de mistura Simplex Lattice.

Experi- Mento	Variáveis Independentes						Resultados		
	Codificação			Solventes			TPC <sup>a</sup>	DPPH <sup>a</sup>	FRAP <sup>a</sup>
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Água	Etanol	Acetona			
1	1.00	0.00	0.00	100	0	0	22,21±0,04	55,87±0,77	21,63±0,06
2	0.00	1.00	0.00	0	100	0	13,22±0,07	53,31±1,11	9,8±0,17
3	0.00	0.00	1.00	0	0	100	8,27±0,01	44,42±0,11	7,67±0,01
4	0.33	0.66	0.00	33.33	66.67	0	19,19±0,05	55,76±1,11	20,89±0,65
5	0.33	0.00	0.66	33.33	0	66.67	21,39±0,56	59,61±0,33	16,13±0,01
6	0.00	0.33	0.66	0	33.33	66.67	10,59±0,11	47,98±0,22	11,63±0,51
7	0.66	0.33	0.00	66.67	33.33	0	20,31±0,82	51,2±1,11	17,47±0,04
8	0.66	0.00	0.33	66.67	0	33.33	19,92±0,41	53,39±1,66	20,07±0,31
9	0.00	0.66	0.33	0	66.67	33.33	14,41±0,03	49,31±1,08	13,38±0,14
10	0.33	0.33	0.33	33.33	33.33	33.33	20,85±0,3	51,16±0,34	22,1±0,06
11	0.66	0.16	0.16	66.67	16.67	16.67	21,19±0,21	53,2±0,55	17,67±0,35
12	0.16	0.66	0.16	16.67	66.67	16.67	20,33±0,21	60,42±0,66	23,67±0,04
13	0.16	0.16	0.66	16.67	16.67	66.67	20,6±0,08	59,09±0,66	20,6±0,93
14	0.33	0.33	0.33	33.33	33.33	33.33	22,59±0,28	56,31±0,35	22,27±0,04

<sup>a</sup>Os resultados são expressos em mg GAE/g extrato para fenólicos totais (TPC) e µmol TE/g extrato seco para as atividades antioxidantes (DPPH, FRAP).

**Tabela 9** - ANOVA – Regressão de modelo para otimização de extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante modelo Simplex.

ANOVA Source	SS	DF	F-value	p-value	R <sup>2</sup>
<i>CFT</i>					
Linear	137,37	2	5,45	0,022	0,40
Quadratic	85,18	3	4,26	0,044	0,68
SpecialCubic	10,50	1	1,71	0,231	0,71
FullCubic	36,07	3	7,11	0,044	0,92
<i>DPPH</i>					
Linear	30,64	2	0,68	0,52	0,11
Quadratic	72,21	3	1,11	0,39	0,37
SpecialCubic	3,04	1	0,12	0,73	0,38
FullCubic	112,00	3	2,56	0,19	0,78
<i>FRAP</i>					
Linear	110,87	2	2,70	0,11	0,20
Quadratic	110,69	3	2,57	0,12	0,44
SpecialCubic	21,93	1	1,65	0,23	0,48
FullCubic	72,52	3	4,84	0,08	0,80

Os resultados da Tabela 9 mostram que o modelo cúbico completo avaliado pela ANOVA foi o que melhor conseguiu reproduzir satisfatoriamente os valores para CFT ( $p$ -value de 0,04 e  $R^2$  : 0,92), enquanto para DPPH ( $p$ -value 0,19 e  $R^2$  : 0,78) e FRAP ( $p$ -value de 0,08  $R^2$  : 0,80) nenhum modelo foi significativo ( $p < 0,05$ ).

Porém, a partir dos tratamentos dos dados para obtenção das curvas de contorno, é possível verificar a influência da interação das misturas isoladas, binárias e ternárias (pontos nas arestas, vértices e no interior do triângulo) (Figura 8, Figura 9 e Figura 10).

#### 4.4.1 Efeito dos solventes na extração dos compostos fenólicos totais (CFT)

Os resultados mostram que houve variação dos compostos fenólicos totais extraídos de fruto de goji berry por diferentes solventes de 8,27 a 22,59 mg GAE/g extrato (Tabela 8).

A partir dos coeficientes dos fatores apresentados na tabela Tabela 10, é possível verificar a eficiência da extração dos compostos fenólicos quando isolados ou em misturas. Quanto maior o valor do coeficiente maior será a influência do solvente, quando em misturas, coeficientes positivos indicam que os dois componentes atuam em sinergia ou são complementares. Coeficientes negativos indicam que os dois componentes são antagonistas em relação ao outro. O solvente que teve maior eficiência de extração isolado foi a água ( $p$  0,00006), em relação aos sistemas binários, a mistura água-acetona foi mais eficiente, onde a água contribuiu significativamente ( $p$  0,01283), porém o melhor potencial atribui-se à mistura ternária ( $p$  0,06716).

Atribui-se que a eficiência de extração é dependente da polaridade do solvente empregado, da origem de materiais de plantas e do tipo de componentes extraíveis. A viscosidade do solvente também pode influenciar no processo de extração, pois os de baixa viscosidade difundem-se melhor entre os componentes de plantas (WIJEKOON, BHAT; KARIM, 2011).

Solventes como metanol e água podem ser considerados com um dos mais eficazes para extrair compostos fenólicos (REZAIE et al., 2015). Segundo Pathirana e Shahjdi (2006), a água quando utilizada em combinação a outros solventes pode contribuir na criação de um meio propício para extrair compostos fenólicos.

**Tabela 10** - Coeficiente dos fatores de misturas para otimização da extração do conteúdo de fenólicos totais.

Fator	Coeficiente	<i>P</i>
(A) Água	22,3580	0,00006
(B) Etanol	13,3520	0,00050
(C) Acetona	8,3526	0,002984

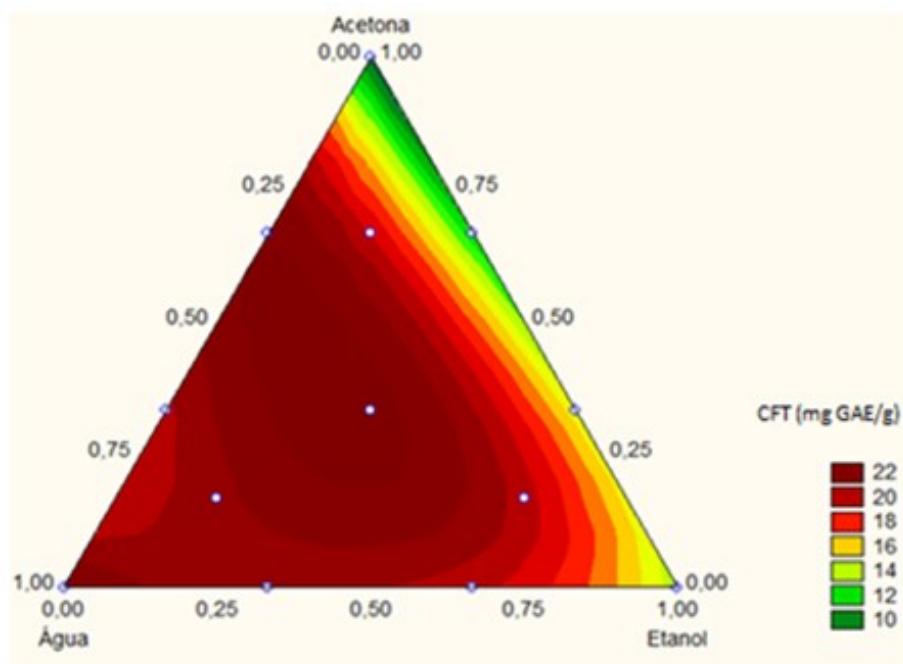
AB	8,8268	0,20242
AC	24,8144	0,01283
BC	8,5972	0,21212
ABC	82,7427	0,06716
AB(A-B)	-14,0036	0,27577
AC(A-C)	-46,7335	0,01359
BC(B-C)	10,5376	0,39633

Cai et al. (2004), ao extrair compostos fenólicos de bagas de goji berry com água, obtiveram teor de 7,0 mg GAE/g, já ao extrair com metanol 80% o valor foi de 25,8 mg GAE/g. O valor do extrato preparado a partir de água foi inferior ao encontrado nesta pesquisa de 22,21 mg GAE/g (ensaio 1), porém é possível notar a influência do metanol comparado ao da água.

Em um estudo proposto por Donno et al. (2014), a extração dos compostos fenólicos foi realizada com solução de metanol e água acidificada com HCL a 37% obteve-se o valor de 2,68 mg GAE/g. Por outro lado pesquisas mais atuais em espécies de bagas de goji nativas do norte da Itália, a extração dos compostos fenólicos com metanol variou de 26,9-mg GAE/g a 58 mg GAE / g (ZHANG et al., 2016).

Liu et al. (2008) ao utilizarem etanol como solvente, obtiveram um teor de fenólicos totais de  $12,53 \pm 0,62$  mg GAE/g, valor similar ao de  $13,22 \pm 0,07$  mg GAE/g (ensaio 2) encontrado aqui. Segundo Donno et al. (2014), os estágios de maturação, as espécies, os fatores ecológicos, a falta de padrão das concentrações dos solventes, dificultam uma comparação com outros estudos quanto aos teores de fenolicos totais presentes nos alimentos.

**Figura 8** - Curva de contorno do conteúdo de fenólicos totais (CFT) em função dos solventes.



#### 4.4.2 Efeito dos solventes na atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH•

O método DPPH é o mais divulgado para a mensuração da atividade antioxidante de plantas. Este método é o mais utilizado devido sua simplicidade, conveniência e tempo, e baseia-se na mudança de coloração da solução de DPPH da cor roxa para amarela quando o radical é eliminado por substâncias com propriedades antioxidantes (OSMAN et al., 2012).

Em relação à atividade sequestradora do radical DPPH, houve variações nos extratos de 44,42 a 60,42  $\mu\text{mol TE/g}$  extrato (Tabela 8). A influência dos solventes utilizados no potencial antioxidante seguiu a mesma tendência da utilizada para o teor de compostos fenólicos totais, onde extratos obtidos com misturas isoladas (água) e misturas ternárias foram mais eficientes na extração de compostos antioxidantes do que em misturas binárias (Tabela 11). Não foi possível observar nos coeficientes do modelo proposto (cúbico completo), porém visto nas curvas de contorno que as maiores atividade antioxidante obtidas foram pelas misturas binárias etanol-água ( $55,76 \pm 1,11 \mu\text{mol TE/g}$  - ensaio 4) e acetona-água ( $59,61 \mu\text{mol TE/g}$  - ensaio 5) (Figura 9). Indicando que o uso da água combinado ao etanol ou acetona cria condições melhores de extração destes componentes, do que quando de forma isolada.

**Tabela 11** - Coeficiente dos fatores de misturas para otimização da extração considerando a atividade antioxidante (DPPH).

<b>Fator</b>	<b>Coeficiente</b>	<b>P</b>
(A)Água	56,3057	0,00012
(B)Etanol	53,6233	0,00014
(C)Acetona	44,8195	0,00029
AB	-3,8716	0,83122
AC	28,3644	0,17096
BC	0,7038	0,96900
ABC	44,5337	0,67126
AB(A-B)	-46,7250	0,22517
AC(A-C)	-70,7621	0,00958
BC(B-C)	-3,8546	0,91160

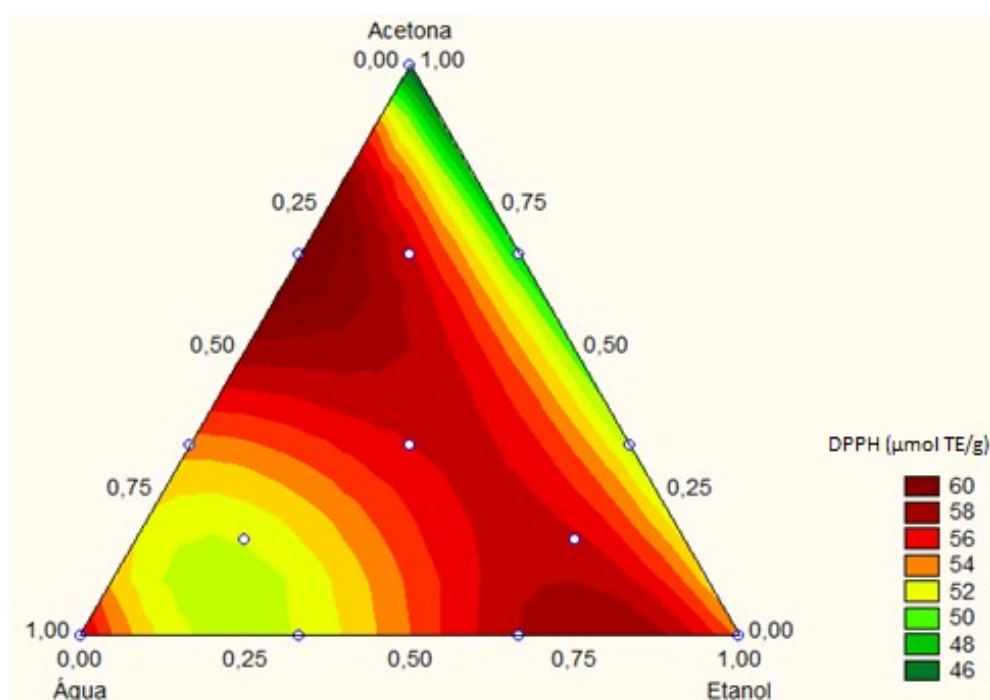
Appoloni (2015) realizou uma pesquisa com goji berry desidratado utilizando apenas etanol como solvente variando apenas suas concentrações de 20% a 80% na extração de compostos com potencial antioxidante, o maior potencial foi obtido com etanol a 20% de 62,03  $\mu\text{mol TE/g}$  e o menor a 80% de 40,0  $\mu\text{mol TE/g}$ , valores aproximados foram encontrados neste trabalho de 53,31  $\mu\text{mol TE/g}$  (ensaio 2) e 55,76  $\mu\text{mol TE/g}$  (ensaio 4), indicando que quando a concentração de etanol diminui a atividade antioxidante aumenta, porém a melhor atividade antioxidante foi relatada ao combinar etanol-água-acetona de 60,42  $\mu\text{mol TE/g}$  (67:16,5:16,5 v/v/v), indicando que concentrações baixas de álcool podem promover a difusão de componentes funcionais, aumentando a atividade antioxidante do fruto (SONG; XU, 2013). Porém estudos recentes utilizaram metanol a 80% na extração e avaliação da atividade antioxidante que variou 35,88 a 85,45  $\mu\text{mol TE/g}$  (ZHANG et al., 2016).

A atividade antioxidante é um dos fatores utilizados para destacar as propriedades nutraceuticas do goji (DONNO et al., 2014), sendo importante considerar o teor de proteínas e aminoácidos quando analisada a atividade antioxidante, pois estes podem ser interferentes no método (YANG et al., 2015; PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008).

Os resultados mostram que o maior pontencial antioxidante está relacionado com solventes em misturas de etanol-água-acetona (67:16,5:16,5 v/v/v), acetona-água (67:33 v/v), água-etanol-acetona (33,3:33,3:33,3 v/v/v), etanol-água (67:33 v/v) e água (100 v/v).

Pesquisas revelam o metanol como um potente solvente, no entanto ao comparar os resultados é possível verificar que a água apesar de não apresentar os mesmos rendimentos é um bom solvente na atividade antioxidante de goji, é barato e de fácil manuseio. Além disso, o metanol não é recomendado na obtenção de extratos que serão utilizados em alimentos ou medicamentos devido à sua toxicidade, e o melhor seria optar por outros solventes (ALBERT, 2014).

**Figura 9** - Curva de contorno da atividade antioxidante (DPPH) em função dos solventes.



#### 4.4.3 Efeito dos solventes na atividade antioxidante do poder redutor (FRAP)

O método de FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro) é baseado na capacidade de um composto reduzir o  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ , onde esta redução é acompanhada pela formação de uma coloração azul intenso (ARAÚJO, 2011).

Os resultados da atividade antioxidante pelo método FRAP variaram de 7,61 a 23,67 μmol TE/g extrato (Tabela 8). Os resultados obtidos são superiores, exceto os extratos obtidos



por etanol e acetona isolados, ao reportado por Henning et al. (2014) de 13,0  $\mu\text{mol TE/g}$  em extratos obtidos com água.

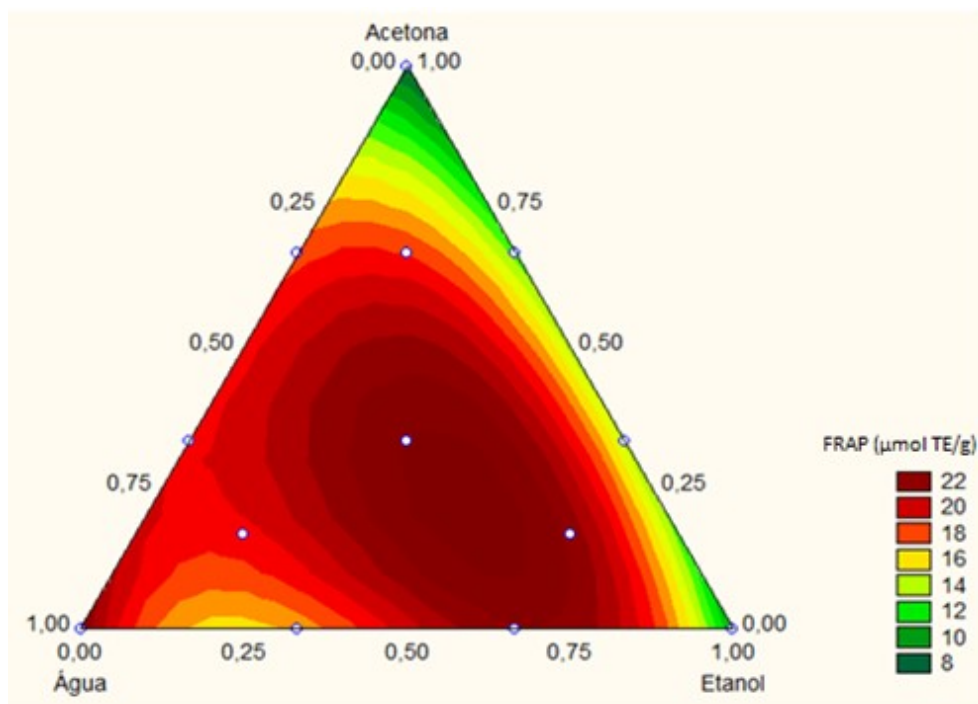
Igualmente ao comportamento dos resultados de DPPH, a atividade antioxidante mais elevada pelo ensaio de FRAP também foi obtida para os extratos etanol-água-acetona (67:16,5:16,5 v/v/v), água-etanol-acetona (33,3:33,3:33,3 v/v/v), etanol-água (67:33 v/v), água-acetona (67:33 v/v) e água (100/v). Porém a água é o solvente mais eficiente ( $p$  0,00060) (Tabela 12, Figura 10).

É possível observar que os compostos fenólicos presentes no goji parecem ter mais afinidades com a água, e que a presença deste solvente ajuda a criar condições melhores de extração, especialmente quando combinado com etanol. Isto pode ser confirmado por estudo realizado por Spigno; Tramelli e Faveri. (2007), onde a adição de água ao etanol melhorou sua taxa de extração em bagaço de uva.

**Tabela 12** - Coeficiente dos fatores de misturas para otimização da extração considerando o poder redutor (FRAP).

<b>Fator</b>	<b>Coeficiente</b>	<b><i>P</i></b>
(A)Água	21,9114	0,00060
(B)Etanol	9,8985	0,01132
(C)Acetona	7,7269	0,02566
AB	14,5325	0,21880
AC	15,1100	0,20410
BC	19,4319	0,12300
ABC	119,5568	0,10413
AB(A-B)	-64,9350	0,02725
AC(A-C)	-23,5047	0,28576
BC(B-C)	21,9114	0,86105

**Figura 10** - Curva de contorno da atividade antioxidante do poder redutor (FRAP) em função dos solventes.



Embora os resultados de DPPH e FRAP sigam a mesma tendência de extração em relação às misturas de solventes, o método de FRAP revelou valores inferiores comparados ao de DPPH, porém há relatos na literatura do mesmo ocorrido nesta pesquisa, a explicação mais provável se dá que o grau de eficiência da atividade antioxidante pelo método FRAP depende do potencial redox dos compostos analisados, caracterizado pela complexidade das suas moléculas (PULIDO; BRAVO; SAURA-CALIXTO, 2000), sendo que algumas substâncias podem não contribuir para a capacidade antioxidante de reduzir o  $\text{Fe}^{3+}$ . Devido ao exposto é aconselhável o uso de vários métodos para avaliar a capacidade antioxidante de matrizes alimentares, uma vez que diferentes métodos podem produzir resultados diversos, e nenhum ensaio prevê realmente a capacidade antioxidante total (MÜLLER; FRÖHLICH; BÖHM, 2011).

As melhores condições de extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram obtidas utilizando como solvente água e etanol, este fato pode estar associado pela interação dos solventes com os componentes presentes no fruto. Dependendo da composição do alimento, as substâncias fenólicas em análise podem se comportar de maneiras diferentes em relação ao solvente utilizado, isto pode ser comprovado por Pham et al. (2015) que avaliou

os efeito de diferentes solventes na extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante em folhas da espécie *Helicteres hirsuta* Lour., onde a água foi considerada ser o melhor solvente seguida do metanol, por Rezaie et al. (2015) ao estudar compostos bioativos da casca de pistacia, onde o etanol e metanol foram mais eficazes na extração e por Rockenbach et al.(2008) que estudou em bagaço de uva o efeito da extração, onde os melhores resultados foram obtidos com a utilização de acetona e água. Logo, a otimização de extração de compostos fenólicos pode alcançar resultados mais precisos avaliando suas interações.

#### 4.4.4 Quantificação dos compostos fenólicos individuais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A composição e a quantificação das principais substâncias fenólicas presentes nos extratos (G1, G2, G3, 5, G12, G13, G14) de goji foram determinadas por análise de HPLC estão apresentados na Tabela 13. Foram identificados 16 compostos, entre eles ácido 2,5-dihidroxibenzoico, ácido 3,4-dihroxibenzoico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido p-cumárico, ácido salicílico, ácido sinápico, ácido trans-cinâmico, ácido elágico, ácido vanílico, ácido cafeico, ácido ferúlico, rutina, miricetina, campterol, crisina e catequina.

Os maiores compostos fenólicos identificados foram ácido 2,5-dihidroxibenzoico, ácido 3,4-dihroxibenzoico, rutina, ácido sinápico, ácido cafeico e ácido vanílico.

**Tabela 13** - Compostos fenólicos em extratos de goji berry (*Lycium barbarum* L.).

Compostos fenólicos		mg. em 100 g. de fruta						
		G1	G2	G3	G5	G12	G13	G14
Ácido 3,4-dihroxibenzoico	3,4-	285,2	50,16	2,1	nd	nd	nd	nd
Ácido 4-hidroxibenzoico	4-	73,6	71,28	7	186	166,4	108,36	187
Ácido p-cumárico		18,4	10,56	5,6	49,6	52	38,7	50
Ácido salicílico		82,8	2,69	1,4	12,4	10,4	nd	12,4
Ácido sinápico		82,8	31,68	8,0	173,6	228,8	147,6	173,6
Ácido trans-cinâmico		nd	2,64	0,7	12,4	10,4	7,4	12,4

Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	2,5-	2916,4	nd	nd	5319	6354	4419	5456
Ácido Vanílico		128,8	34,32	7,7	161,2	176,8	108,36	186
Ácido Elágico		64,4	13,2	nd	74,4	72,8	46,44	62
Ácido Cafeico		220,8	nd	nd	173,6	nd	nd	173,6
Rutina		156,4	29,04	nd	248	187,2	139,32	136,4
Miricetina		55,2	nd	nd	nd	31,2	nd	37,2
Crisina		82,8	nd	3,5	62	52	nd	62
Campferol		46	nd	nd	24,8	nd	nd	nd
Ácido ferúlico		nd	nd	2,1	nd	nd	nd	24,8
Catequina		nd	nd	0,7	nd	nd	nd	nd

\* nd = não detectado. \*\* Sendo G1(água 100%), G2 (etanol100%), G3 (acetona 100%), G5 (acetona-água 67:33 v/v), G12 (acetona-água-etanol 67:16,7:16,7 v/v/v), G13 (etanol-água-acetona 67:16,7:16,7 v/v/v) e G14 (água-etanol-acetona 33,3:33,3:33,3 v/v/v).

O Ácido 2,5-dihidroxibenzoico foi um dos componentes mais abundantes identificados, não sendo detectado em extratos etanólico e cetônico, porém em extratos preparados com apenas água ou em misturas aquosas. A concentração variou de 2916,4 a 6354 mg. 100g de fruta. Em relação ao ácido 3,4-dihidroxibenzoico só foi detectado quando utilizou-se apenas mono-solventes que variou de 2,1 a 285,2 mg.100 g. de fruta. O ácido 4-hidroxibenzoico esteve presente em todas as amostras variando de 7 a 187 mg. 100 g. de fruta. O ácido p-cumárico também esteve presente variando de 5,6 a 50 mg. 100 g. de fruta. O ácido salicílico não foi identificado em apenas um extrato (etanol-água-acetona 67:16,7:16,7 v/v/v) e sua concentração variou de 1,4 a 82,8 mg. 100 g. de fruta.

O ácido sinápico variou de 8 a 228,8 mg. 100 g. de fruta. O ácido vanílico variou de 7,7 a 186 mg. 100 g. de fruta. O ácido elágico não foi detectado em extrato cetônico, porém foi identificado nos outros extratos com uma variação de 13,2 a 64 mg. 100 g. de fruta.

A detecção do ácido trans-cinâmico não foi possível em solvente água 100%, enquanto a combinação em menor quantidade deste solvente em relação ao etanol e acetona potencializou a extração, variando de 0,7 a 12,4 mg. 100 g. de fruta.

Em relação ao ácido cafeico a concentração variou de 173,6 a 220,8 mg. 100 g. de fruta, não sendo possível sua identificação em extratos etanólico e cetônico ou quando suas concentrações estavam presentes em maiores quantidades na mistura. Quanto a rutina só não foi identificada em extrato cetônico, variando de 29,04 a 2486,4 mg. 100 g. de fruta. A miricitina também esteve presente nos mesmos extratos que continham ácido cafeico, não foi possível detectá-la em extratos etanólico e cetônico ou quando suas concentrações estavam presentes em maiores quantidades na mistura, com uma variação de 31,2 a 55,2 4 mg. 100 g. de fruta. A crisina não foi detectada em extratos obtidos apenas com etanol ou quando em mistura estava presente em maiores concentrações, variando de 3,5 (acetona 100 /v) a 82,8 (água 100 /v), mg. 100 g. de fruta respectivamente. O campferol só foi identificado em água (100 v/) e em menor quantidade em mistura de acetona-água, não estando presente em nenhuma das misturas contendo etanol. O ácido ferúlico esteve presente em acetona (100 v/) ou em água-etanol-acetona (33,3:33,3:33,3 v/v/v). E a catequina só foi identificada em extratos cetônicos (acetona 100 /v) com 0,7 mg. 100 g. de fruta.

Em relação à quantidade de compostos fenólicos os extratos que conseguiram identificar maiores quantidades foi extrato G1 (água 100 /v) e G14(33,3:33,3:33,3 v/v/v ) que identificaram 13 e G7(água-etanol-acetona 33,3:33,3:33,3 v/v/v) que identificou 12 deste compostos respectivamente.

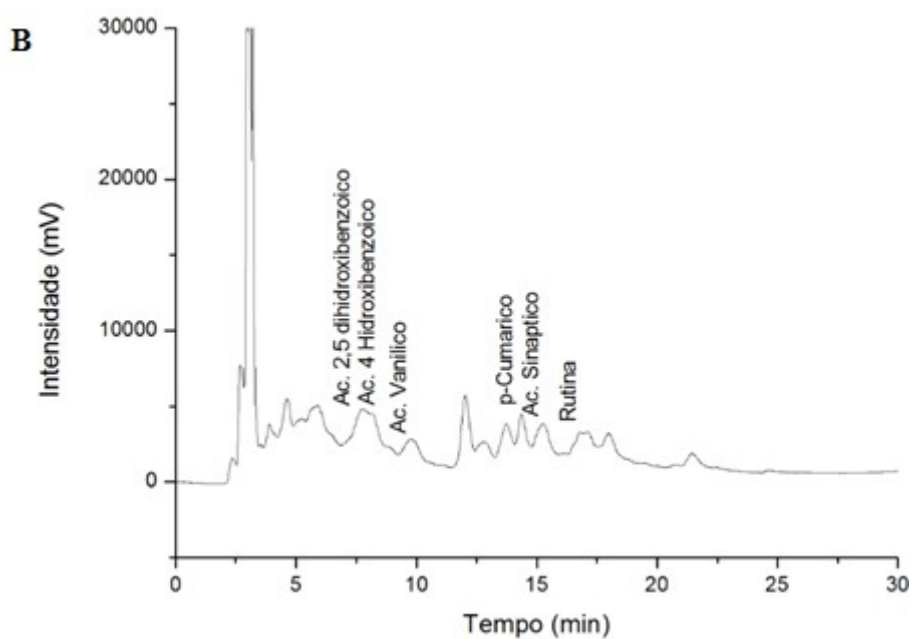
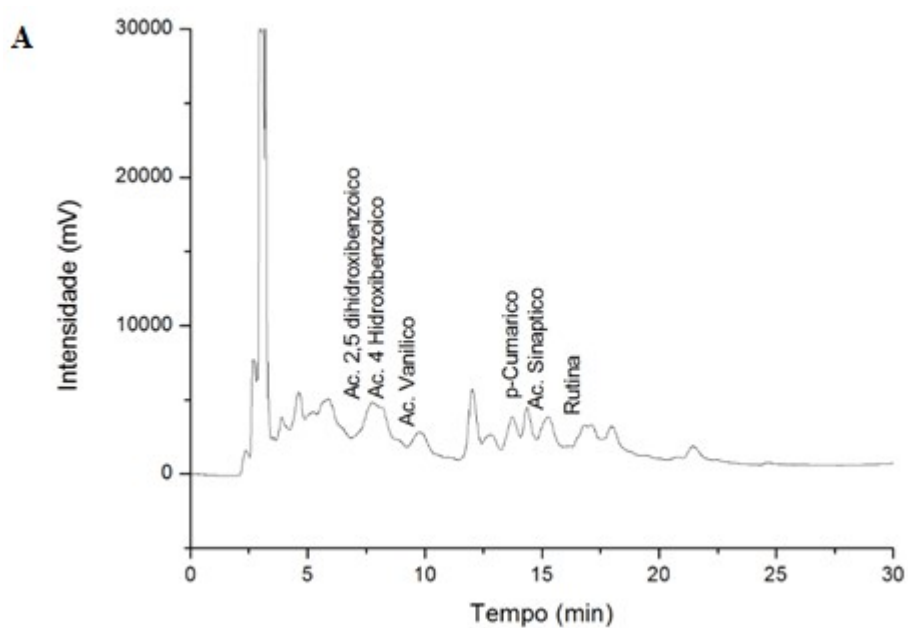
Dentre os mono-solventes, a água (G1) obteve maiores concentrações de compostos fenólicos em relação ao etanol e a acetona.

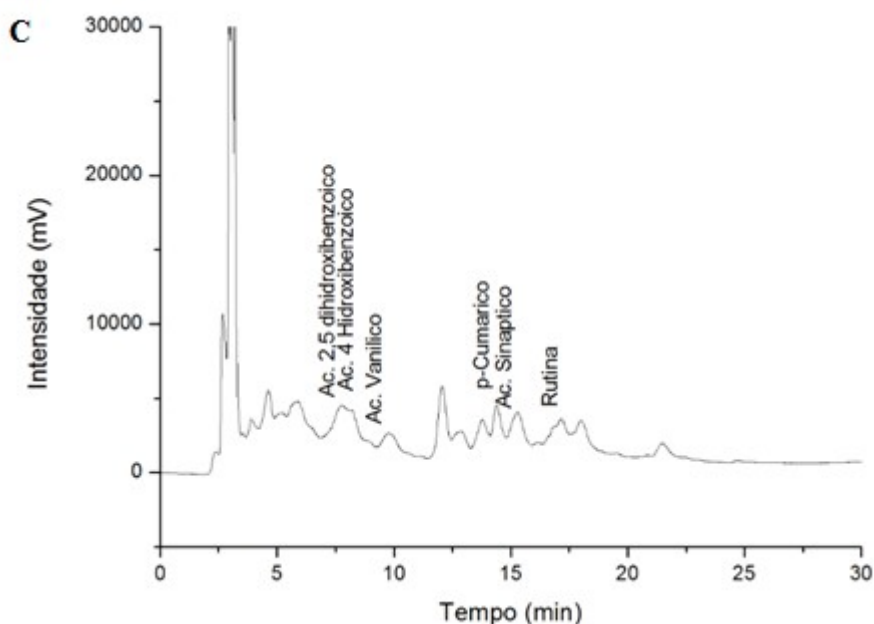
Em relação à mistura binária, a amostra acetona-água (67:33 v/v), apresentou 11 compostos, com uma maior concentração de rutina, além disso é possível observar que a água potencializa o poder extrativo da acetona quando comparada em mono-solvente.

Nas misturas ternárias a mistura G14 (33,3:33,3:33,3 v/v/v) extraiu maiores concentrações de ácido 4-hidroxibenzoico, ácido salicílico, ácido vanílico, ácido trans-cinâmico, ácido cafeico, miricitina, crisina e ácido ferúlico, enquanto a mistura G13 (etanol-água-acetona 67:16,7:16,7 v/v/v), identificou maiores concentrações de ácido sinápico, ácido 2,5-dihidroxibenzoico e ácido elágico, para G12 (acetona-água-etanol 67:16,7:16,7 v/v/v) ácido p-cumárico, ácido sinápico e ácido 2,5-dihidroxibenzoico, em maiores concentrações respectivamente., indicando que a água interferiu positivamente na extração destes. Pois, tanto no etanol como na acetona, a presença da água potencializa a extração.

Após a somatória dos compostos fenólicos escolheu-se os resultados mais expressivos verificando melhores respostas através de uma sequência decrescente G14> G13> G12. Em função dos resultados foi construído três cromatogramas (Figura 11).

**Figura 11** - Cromatogramas do (A) ensaio 14, (B) ensaio 13 e (C) ensaio em extrato de goji berry (*Lycium barbarum* L.).





No presente estudo a moirria dos compostos fenólicos identificados estão de acordo com os mencionados por Zhang et al. (2016) em extratos preparados com metanol 80%, identificaram 11 compostos fenólicos em goji, dentre eles estão flavonóides (quercetina, miricetina, caempferol, rutina, quercetina-rhamno-di-hexoside e quercetina-3-Orutinoside) e cinco ácidos fenólicos (ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido vanílico e ácido clorogênico). Enquanto extratos preparados com metanol a 50% apresentaram positivamente ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido 4-dihidroxibenzoico, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, rutina, porém crisina não foi identificada (MAGIERA; ZAREBA, 2015). Donno et al. (2014) não itentificou rutina e ácido elágico.

Apenas quercetina-rhamno-di-hexoside e quercetina-3-Orutinoside não foram detectados neste estudo, porém isso pode ser justificado devido a condições de cada fruta nativa, condições climáticas e ambientais, bem como manueio e a variação na concentração dos solventes empregados na extração destes compostos, uma vez que já há relatos de algumas diferenças em estudos anteriores (ZHANG et al., 2016), onde em um havia compostos eram predominantes, enquanto em outros as frações destes eram mínimas.

Dentre os compostos identificados podemos destacar o ácido sináptico, o ácido elágico, o ácido cafeico e a rutina com efeitos benéficos a saúde já elucidados. O ácido sináptico é um importante compostos fenólico, pois possui efeitos anti-inflamatório e neuroprotetor (LEE et al, 2012). O ácido elágico possui sua ação ligada ao seu potencial antioxidante e quimioprotetora inibindo o crescimento de células de câncer da próstata e na

prevenção e tratamento de outras formas de câncer tais como o câncer da mama (HEBER, 2008). O ácido cafeico é um dos mais importantes compostos fenólicos, e apresenta diferentes propriedades biológicas, entre elas antioxidante e antimicrobiana (PARACATU, 2012). O ácido cafeico mostra-se potentes inibidores do crescimento celular de células de câncer de cólon (MURAD, 2013). A rutina é um flavonol pertencente a uma importante classe de flavanoides encontrado largamente na natureza, com propriedades de inibir o processo de formação de radicais livres em vários estágios (PEDRIALI, 2005), além de estudos demonstrarem o efeito antioxidante, sendo importante papel na prevenção da aterosclerose, efeito na diminuição dos fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCV), devido ao aumento da concentração de colesterol-HDL (RODRIGUES et al., 2003).

O goji berry apresenta-se como uma importante fonte de compostos fenólicos, uma vez que estes participam de inúmeras funções, dentre eles os ácidos dihidróxibenzoicos (DHBA), que possuem capacidade antioxidante e antiinflamatório (NETO, 2013), além disso atuam como um potente agente de quimioprevenção que impede, inibe ou inverte a tumorigênese (TANAKA 1995; LIN et al., 2007).



## 5 CONCLUSÃO

O Goji berry apresenta-se como uma importante fonte de proteínas, vitamina C, e minerais, além de possuir baixo teor lipídico, apresentando importantes propriedades nutricionais e funcionais como os compostos fenólicos. Dentre os compostos identificados podemos destacar o ácido 2,5 dihidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido sináptico, o ácido elágico, o ácido cafeico e a rutina com efeitos benéficos a saúde já confirmados.

A partir do delineamento experimental foi possível estimar o efeito de três variáveis independentes (água, etanol e acetona) sobre a extração de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante. Os melhores mecanismos de extração foram obtidos a partir de misturas ternárias utilizando o etanol em maior concentração, seguida de mistura binária de etanol e água, porém observou-se uma maior interação nos experimentos contendo a água em suas diversas proporções, além desta ter se mostrado isoladamente mais eficaz que os outros solventes.

Este estudo fornece dados para melhor conhecimento das propriedades nutricionais e possível aplicação como alimento funcional, além de otimizar a extração de compostos fenólicos e sua atividade antioxidante para possível aplicação na indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos.

## REFERÊNCIAS

ALBERT, A. **Compostos fenólicos da maçã: Extração, perfil e classes fenólicas, atividade antioxidante, processamento e avaliação termoanalítica**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2014.

AMAGASE, H.; FARNSWORTH, N. R. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji). **Food Research International**, v. 44, p. 1702-1717, 2011.

AMAGASE, H.; SUN, B.; BOREK, C. *Lycium barbarum* (goji) juice shows significant in vivo antioxidant effects in human serum in a randomized, double-blind, placebo controlled clinical study. **Nutrition Research**, n. 29, p.19–25. 2009.

AMAGASE, H.; SUN, B.; NANCE, D. M. Immunomodulatory effects of a standardized *Lycium barbarum* fruit juice in Chinese older healthy human subjects. **Journal of Medicinal Foods**, n. 12, v. 5, p. 1159–1165, 2009.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 01-09, 2007.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Informe Técnico nº 66**, 01 de junho de 2015, Esclarecimentos sobre a avaliação de segurança da espécie vegetal *Lycium barbarum*, também conhecida como goji berry. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Informes+Tecnicos> >. Acesso em: 01 de abr. de 2015.

AOAC- Association of Official Analytical Chemists. HORWITZ, W. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18th ed. Washington: AOAC, 2005.1115 p.

AOAC- Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 17th ed. Washington: AOAC, 2000.

APPOLONI, M. C. **Estudo dos compostos bioativos da *Lycium barbarum***. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2015. 51 p.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos**. 5 ed. Viçosa: Editora UFV, 2011.

BALDWIN, G. B.; GOLDMAN, D.; KEIL, D. J.; PATTERSON, R.; ROSATTI, T. J. Digital Manual Jepsen: **Vascular Plants of California, completely revised and expanded**, 2 ed. Berkeley, EUA: University of California Press, 2012. 1252 p.

BENLLOCH, M.; MURIACH, M.; CASTELLANO, G.; PELLUZ, F. J. S.; GARCIA, E. G.; BELLVER, M. F.; ROMERO, F. J. *Lycium Barbarum* and Human Health. Canadá: **Springer Science**, p. 153-154, 2015.

BOOIJ, I.; PIOMBO, G.; RISTURUCCI, A. M.; D.T. COUMP, D. T., FERRY, M. Study of chemical composition of dates at various stages of maturity for the varietal characterization various cultivars of palm trees (*Phoenix dactylifera* L.). **Fruits**, v. 47, p. 667-678, 1992.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT. Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Resolução-RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 ago. 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8100bb8040eac2e8b590b79cca79f4cf/RDC+n%C2%BA+42\\_2013\\_final.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8100bb8040eac2e8b590b79cca79f4cf/RDC+n%C2%BA+42_2013_final.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 10 abr. 2016.

BRASIL. Resolução - RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2003.

BRYAN, J. K.; COSTA, D.; GIESE, N.; NUMMY, K.; RAPP, C.; SEAMON, E.; et al. Goji (*Lycium spp*) in natural standard monograph. **Natural Standard**, 2008. Disponível em: <[Inc.www.naturalstandard.com](http://www.naturalstandard.com)>. Acesso em: mar. 2016.

CARNÉS, J., LARRAMENDI, C. H., FERRER, A., HUERTAS, A. J., MATAS, M. A. L., PAGÁN, J. A., NAVARRO, L. A., ABUJETA, J. L. G., VICARIO, S., PEÑA, M. Recently introduced foods as new allergenic sources: Sensitisation to Goji berries (*Lycium barbarum*). **Food Chemistry**, v.137, p.130-135, 2013.

CARVALHO, W.; FONSECA, M. E. N.; SILVA, H. R.; BOITEUX, L. S.; GIORDANO, L. B. Estimativa indireta de teores de licopeno em frutos de genótipos de tomateiro via análise colorimétrica. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 232, n. 3, p. 819-825, 2005.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life sciences**, v. 74, p. 2157 -2184, 2004.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. 2ª Ed.rev. Campinas, SP. Editora Unicamp, 2003.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças : fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2005. p. 273.

CONNELL, H.; MARANAN, W. J. **Powerful Paleo Superfoods: The Best Primal-Friendly Foods for Burning Fat, Building Muscle and Optimal Health**. USA, p. 11-12, 2014.

DAI, Z.; WANG, R.; ANG, L. W.; LOW, Y. L.; YUAN, J. M.; KOH, W. P. Protective Effects of Dietary Carotenoids on Risk of Hip Fracture in Men: The Singapore Chinese Health Study. **Journal of bone and mineral research**, v. 29, p. 408-417, 2014.

DEPKEVICIUS, A.; VENSKUTONIS, R.; BEEK, T.A.V.; LINSSEN, J.P.H. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. **Journal of Science of Food and Agricultural**, v.77, p.140-146, 1998.

DHARMANANDA, S. Lycium fruit. Portland, Oregon: Food and Medicine, **Institute for Traditional Medicine**, 2007. Disponível em: < <http://www.itmonline.org/arts/lycium.htm>>. Acesso em: jan. de 2015.

DONG, J. Z.; WANG, S. H.; ZHU, L.; WANG, Y. Analysis on the main active components of *Lycium barbarum* fruits and related environmental factors. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 12, p. 2276-2283, 2012.

DONNO, D.; BECCARO, G. L.; MELLANO, M.G.; CERUTTI, A. K.; BOUNOUS, G. Goji berry fruit (*Lycium spp.*): antioxidant compound fingerprint and bioactivity evaluation, **Journal of Functional Foods**, v. 18, n. B, p. 1070- 1085, 2014.

DURSUN, R.; ZENGİN, Y.; GÜNDOZ, E.; İÇER, M.; DURGUN, H. M.; DAGGULLI, M.; KAPLAN, I.; ALABALIK, U.; GÜLOĞLU, C. The protective effect of goji berry extract in ischemic reperfusion in testis torsion. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 8, n. 2, p. 2727-2733, 2015.

ENDES, Z.; USLU, N.; OZCAN, M. M.; ER, F. Physico-chemical properties, fatty acid composition and mineral contents of goji berry (*Lycium barbarum* L.) fruit . **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, v. 21, n. 1, p. 36-40, 2015.

EPAMINONDAS, P.S. **Avaliação do potencial oxidante de extratos vegetais, isolados ou associados sinergicamente a antioxidantes sintéticos, aplicados ao óleo de linhaça**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia. Paraíba: Universidade Federal da Paraíba, 2013.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema** – 4<sup>a</sup> ed. Editora Artmed, 2010.

FORINO, M.; TARTAGLIONE, L.; DELL’AVERSANO, C.; CIMINIELLO, P. NMR-based identification of the phenolic profile of fruits of *Lycium barbarum* (goji berries). Isolation and structural determination of a novel N-feruloyl tyramine dimer as the most abundant antioxidant polyphenol of goji berries. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1254-1259, 2016.

GAN, L.; ZHANG, H. S.; YANG, Y.X. et al. Immunomodulation and antitumor activity by a polysaccharideprotein complex from *Lycium barbarum*. **International Immunopharmacol**, v.4, p.563-569, 2004.

GUNDUZ, E.; DURSUN, R.; ZENGİN, Y.; İÇER, M.; DURGUN, H. M.; KANICE, A.; KAPLAN, I.; ALABALIK, U.; GURBUZ, H.; GULOGLU, C. *Lycium barbarum* extract provides effective protection against paracetamol-induced acute hepatotoxicity in rats. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 8, p. 7898-7905, 2015.

GUO, M.; SHI, T.; DUAN, Y.; ZHU, J.; LI, J.; CAO, Y. Investigation of amino acids in wolfberry fruit (*Lycium barbarum*) by solid-phase extraction and liquid chromatography with precolumn derivatization. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 42, p. 84-90, 2015.

GUOLIANG, L., JUNYOU, S., YOURUI, S., ZHIWEI, S., LIAN, X., JIE, Z., JINMAO, Y., YONGJUN, L. Supercritical CO<sub>2</sub> cell breaking extraction of *Lycium barbarum* seed oil and determination of its chemical composition by HPLC/APCI/MS and antioxidantActivity. **LWT. Food Science and Technology**, v. 44, p. 1172-1178, 2011.

HA, K. T.; YOON, D. Y.; CHOI, D. W.; KIM, J. K.; KIM, C. H., Protective Effect of *Lycium Chinese* Fruit on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n. 3, p. 529-535, 2005.

HEBER, D. Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins Cancer Letters. **Natural Products Special Issue**, v. 269, p. 262–268, 2008.

HENNING, S.M.; ZHANG, Y.; RONTROYANNI, V.G.; HUANG, J.; LEE, R.P; TRANG, A.; NUERNBERGER, G.; HEBER, D. Variability in the Antioxidant Activity of Dietary Supplements from Pomegranate, Milk Thistle, Green Tea, Grape Seed, Goji, and Acai: Effects of in Vitro Digestion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 4313-4432, 2014.

HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; GARCÍA, O. P.; ROSADO, J. L; GOÑI, I. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1182–1189, 2011.

INBARAJ, B. S. ; LU, H.; HUNG, C. F.; WU, W. B.; LIN, C. L.; CHEN, B. H. Determination of carotenoids and their esters in fruits of *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC-DAD-APCI-MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 47, p. 812-818, 2008.

IONICA, M. E.; NOUR, V.; TRANDAFIR, I. Polyphenols content and antioxidant capacity of goji fruits (*Lycium chinense*) as affected by the extraction solvents. **South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment**, v. 3, n. 2, p. 121-129, 2012.

JIN, M.; HUANGA, Q.; ZHAO, K.; SHANG, P. Biological activities and potential health benefit effects of polysaccharides isolated from *Lycium barbarum* L. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 54, p. 16– 23, 2013.

JOMOYA, K.; VALKO, M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 70, p.102-110, 2013.

KAMER, S.B.; GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 19, n. 4, p. 239-251, 1952.

LE, K.; CHIU, F.; NG, K. Identification and quantification of antioxidants in Fructus lycii. **Food Chemistry**, v. 105, p. 353-363, 2007.

LEE, H. E.; KIM, D. H.; PARK, S. J.; KIM, J. M.; LEE, Y. W.; JUNG, J. M.; LEE, C. H.; HONG, J. G.; LIU, X.; CAI, M.; PARK, K. J.; JANG, D. S.; RYU, J. H. Neuroprotective effect of sinapic acid in a mouse model of amyloid  $\beta$ 1-42 protein-induced Alzheimer's disease. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 103, p. 260- 266, 2012.

LIN, H. H., CHEN, J. H., HUANG, C. C., WANG, C. J. Apoptotic effect of 3,4-dihydroxybenzoic acid on human gastric carcinoma cells involving JNK/p38 MAPK signaling activation. **International Journal of Cancer**, v. 120, n. 11, p. 2306-2316, 2007.

LIU, H.; QIU, N.; DING, H.; YAO, R. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. **Food Research International**, v. 41, p. 363–370, 2008.

LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; FERNÁNDEZ-DE CÓRDOVA, M. L.; ORTEGA-BARRALES, P.; RUIZ-MEDINA, A. Characterization and comparison of the chemical composition of exotic superfoods. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 444–451, 2013.

LUO, Q., LI, Z., YAN, J., ZHU, F., XU, R. J., CAI, Y. Z. Lyciumbarbarum Polysaccharides Induce Apoptosis in Human Prostate Cancer Cells and Inhibits Prostate Cancer Growth in a Xenograft Mouse Model of Human Prostate Cancer. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, p. 695–703, 2009.

LUZIA, D. M. M.; BERTANHA, B. J; JORGE, N. Sementes de pitanga (*Eugenia uniflora* L.): potencial antioxidante e perfil de ácidos graxos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 2, p. 175-180, 2010.

MAGIERA, S.; ZAREBA, M. Chromatographic Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in *Lycium barbarum* L. and Evaluation of Antioxidant Activity. **Food Analytical Methods**, v. 8, p. 2665–2674, 2015.

MARTINS, G. S. G.; COIMBRA, C. C. B. E.; SCHLICHTING, C.L.R. Toxicidade do goji berry (*Lycium barbarum*). **Revista Uningá Review**, v. 20, n. 1, p. 87-91, 2014.

MATTIETO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H.C. Physical and physicochemical characterization of caju fruit (*Spondias mombin* L.) and its pulp, obtained using two types of extractor. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 156-164, 2010.

MCGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **Hort Science**, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

MENEZES, E. W.; GIUNTINI, E. B.; LAJOLO, F. M. A questão da variabilidade e qualidade de dados de composição de alimentos. **Nutrire**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 63-76, 2003.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, US, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MONTEIRO, D. C. B.; SOUSA, W. C.; PIRES, C. R.; AZEVEDO, L. A.; BORGES, J.S. Caracterização físico-química do fruto e da geleia de murici (*Brysonima crassifolia*). **Enciclopédia Biosfera**, v.11, n.21, p.3356, 2015.

MOREIRA, I.; SCHEEL, G. L.; HATUMURA, P. H.; SCARMINIO, I. S. Efeito do solvente na extração de ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina em *Coffea arábica*. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 39-43, 2014.

MÜLLER, L.; FRÖHLICH, K.; BÖHM, V. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay ( $\alpha$ TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. **Food Chemistry**, v. 129, p. 139-148, 2011.

MURAD, L. D. **Efeitos dos ácidos cafeico e 5-cafeoilquínico sobre o crescimento e captação celular em células de adenocarcinoma de cólon humano**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado do Rio De Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 1523-1542, 2006.

NETO, B. B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas, Editora da Unicamp, 1995. 299 p

NETO, E. L. O. **Síntese, caracterização e estudos de reatividade e atividade biológica de nitrosilo complexos de rutênio com ligantes diflunisal e dihidroxibenzoicos**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

NETO, M. A. S. MAIA, G. A.; LIMA, J. R.; FIGUEIREDO, R. W.; FILHO, M. S. M. S.; LIMA, A. S. Desidratação osmótica de manga seguida de secagem desidratação osmótica de manga seguida de secagem convencional: avaliação das variáveis de processos, **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, p. 1021-1028, 2005.

OLIVEIRA, L. C.; OLIVEIRA, S. C.; MAMEDE, M.E.O. Avaliação das características físico-químicas e colorimétricas de vinhos finos de duas principais regiões vinícolas do Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz.**, v. 70, n. 2, p. 157-166, 2011.

OLIVEIRA, L. F. **Efeito dos parâmetros do processo de desidratação de jaca (*Artocarpus heterophyllus*, Lam.) Sobre as propriedades químicas, físico-químicas e aceitação Sensorial**. Monografia, Rio de Janeiro: Universidade Tecnológica do Paraná, 2009.



OSMAN, N. I.; AWAL, A.; SIDIK, N. A.; ABDULLAH, S. Antioxidant activities of in vitro seedlings of *Lycium barbarum* (goji) by diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) assay.

**International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 137-141, 2012.

PARACATU, L. C. **Ácido cafeico e seus ésteres: inibição do burst oxidativo de neutrófilos e efeito anti-*Helicobacter pylori***. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2012.

PATHIRANA, L. C. M.; SHAHJDI, F. Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 1256-1264, 2006.

PEDRIALI, C. A. **Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M.E.; SERRANO, J.; GOÑI, I.; et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v. 41, p. 274-85, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, p. 791-800, 2006.

PETKOVSEK, M. M., SLATNAR, A., STAMPAR, F., VEBERIC, R. HPLC–MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2138–2146, 2012.

PHAM, H.N.T.; NGUYEN, V.T.; VUONG, Q.V.; BOWYER, M.C.; SCARLETT, C.J. Effect of Extraction Solvents and Drying Methods on the Physicochemical and Antioxidant Properties of *Helicteres hirsuta* Lour. Leaves. **Technologies**, v. 3, p. 285-301, 2015.

POTTERAT, O. Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity. **Planta Medica**, n.76, v.1, p.7–19, 2010.

PRASAD, N., YANG, B., KONG, K.W., KHOO, H. E., SUN, J., AZLAN, A., ISMAIL, A., ROMLI, Z. B. Phytochemicals and Antioxidant Capacity from *Nypa fruticans* Wurmb. Fruit. **Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-9, 2013.

PRASAD, H. N.; YANG, B.; YANG, S. CHEN, Y. ZHAO, M. ASHRAF, M.; JIANG, Y. Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds. **Food Chemistry**, v. 116, p. 1–7, 2009.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenolics as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3396-3402, 2000.

REHMAN, Z. Citrus peel extract: a natural source of antioxidant. **Food Chemistry**, v. 99, n. 3, p. 450-454, 2006.

REIS, L. S.; GANÇALVES, E. C. B. A. Chemical speciation: an instrument for evaluation of mineral bioavailability/Especiação química--uma ferramenta para avaliação da biodisponibilidade de minerais em alimentos. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 1126-1132, 2015.

REZAIE, M., FARHOOSH, R., IRANSHAHI, M., SHARIF, A.; GOLMOHAMADZADEH, S. Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull using various solvents of different physicochemical properties. **Food Chemistry**, v. 173, p. 577–583, 2015.

RINALD, M. M.; LIMA, T. A.; ASCHERI, D. P. R. **Caracterização física de frutos de mamão e química de cascas e sementes**. Boletim de pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Cerrados. Planaltina, Distrito Federal. 2010.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238-244, 2008.

RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S.A.; FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A. A. H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rotina na concentração de colesterol-HDL. **Revista de Nutrição**, v. 16,n.3, 2003.

ROSSI, J. A. J.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica**. Determinação de Atividade Antioxidante Total em frutas pelo Método de Redução

do Ferro (FRAP). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 4p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 125).

SEEL, P.; MURRIEL, G. **Flora of Britain and Ireland**. Cambridge, p.325-326, 2009.

SEERAM, N. P. Berry Fruits: Compositional Elements, Biochemical Activities, and the Impact of Their Intake on Human Health, Performance, and Disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 627–629, 2008.

SHEN, L.; DU, G. *Lycium barbarum* polysaccharide stimulates proliferation of MCF-7 cells by the ERK pathway. **Life Sciences**, v. 91, p. 353–357, 2012.

SIELICKA, M.; SAMOTYJA, U. Solvent influence on antioxidant activity assay of selected cold-pressed plant oils. **PhD Interdisciplinary Journal**, p. 67-73, 2013.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V.L. Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 28, p. 49-55, 1977.

SNOW, B.; SNOW, D. **Birds and Berries**. London, GB: Poyser, p. 249-250, 2010.

SONG, Y.; XU, B. Diffusion Profiles of Health Beneficial Components from Goji Berry (*Lyceum barbarum*) Marinated in Alcohol and Their Antiozidant Capacities as Affected by Alcohol Concentration and Steeping time. **Journal of Food and Science**, v. 2, p. 32-42, 2013.

SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; DE FAVERI, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 1, p. 200-208, 2007.

STEPHEN, I. B.; LUA, H.; HUNGB, C. F.; WUB, W.B.; LINC, C. L.; CHENA, B. H.Determination of carotenoids and their esters in fruits of *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC–DAD–APCI–MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.47, p.812-818, 2008.

TANAKA, T.; KORJINA, T.; KAWAMORI, T. MORI, H. Chemoprevention of Digestive Organs Carcinogenesis by Natural Product Protocatechuic Acid. **Câncer**, v. 75, n. 6, p. 1433-1439, 1995.

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Reference Release 28 Full Report (All Nutrients) - Goji berries, dried, 2012. Disponível em: <  
<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2221?fg=&sort=&offset=&format=Full&new=&measureby=>>. Acesso em: 01 de abr. de 2015.

WANG, C. C.; CHANG, S. C.; INBARAJ, B. S.; CHEN B. H. Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 120, p. 184–192, 2010.

WIJEKOON, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bunga kantan (*Etlingera elatior* Jack.) inflorescence. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 615–619, 2011.

YANG, R.; ZHAO, C.; CHEN, X.; CHAN, S. W. WU, J. Y. Chemical properties and bioactivities of Goji (*Lycium barbarum*) polysaccharides extracted by different methods. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 903–909, 2015.

ZHANG, Q.; CHEN, W.; ZHAO, J. XI, W. Functional constituents and antioxidant activities of eight Chinese native goji genotypes. **Food Chemistry**, v. 200, p. 230–236, 2016.

ZHANG, Z., LIU, X., ZHANG, X., LIU, J., HAO, Y., YANG, X., WANG, Y. Comparative Evaluation of the Antioxidant Effects of the Natural Vitamin C Analog 2-O- $\beta$ -D glucopyranosyl L-ascorbic Acid Isolated from Goji berry Fruit. **Archives of Pharmacal Research**, v. 34, n. 5, p. 801-810, 2011.

ZHONG, Y.; SHAHIDI, F.; NACZK, M. Hui : Food Science and Technology : **Dried Fruits : Phytochemicals and Health Effects**. Somerset, USA: John Wiley & Sons, p.133-141, 2012.

ZHU, Y. P. Gou qi zi. **Chinese Materia Medica Chemistry, Pharmacology and Applications**. Amsterdam, Netherlands: Harwood Academic Publishers, p.642-646, 1998.